

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

JEAN GIAJA

1^{re} Thèse — ETUDE DES FERMENTS DES GLUCOSIDES ET DES HYDRATES
DE CARBONE CHEZ LES MOLLUSQUES ET CHEZ LES
CRUSTACÉS.

2^e Thèse — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

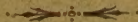
Soutenues le 23 Juin 1909, devant la Commission d'examen

MM. DASTRE *Président*

WALLERANT .

MOLLIARD . .

} *Examineurs*

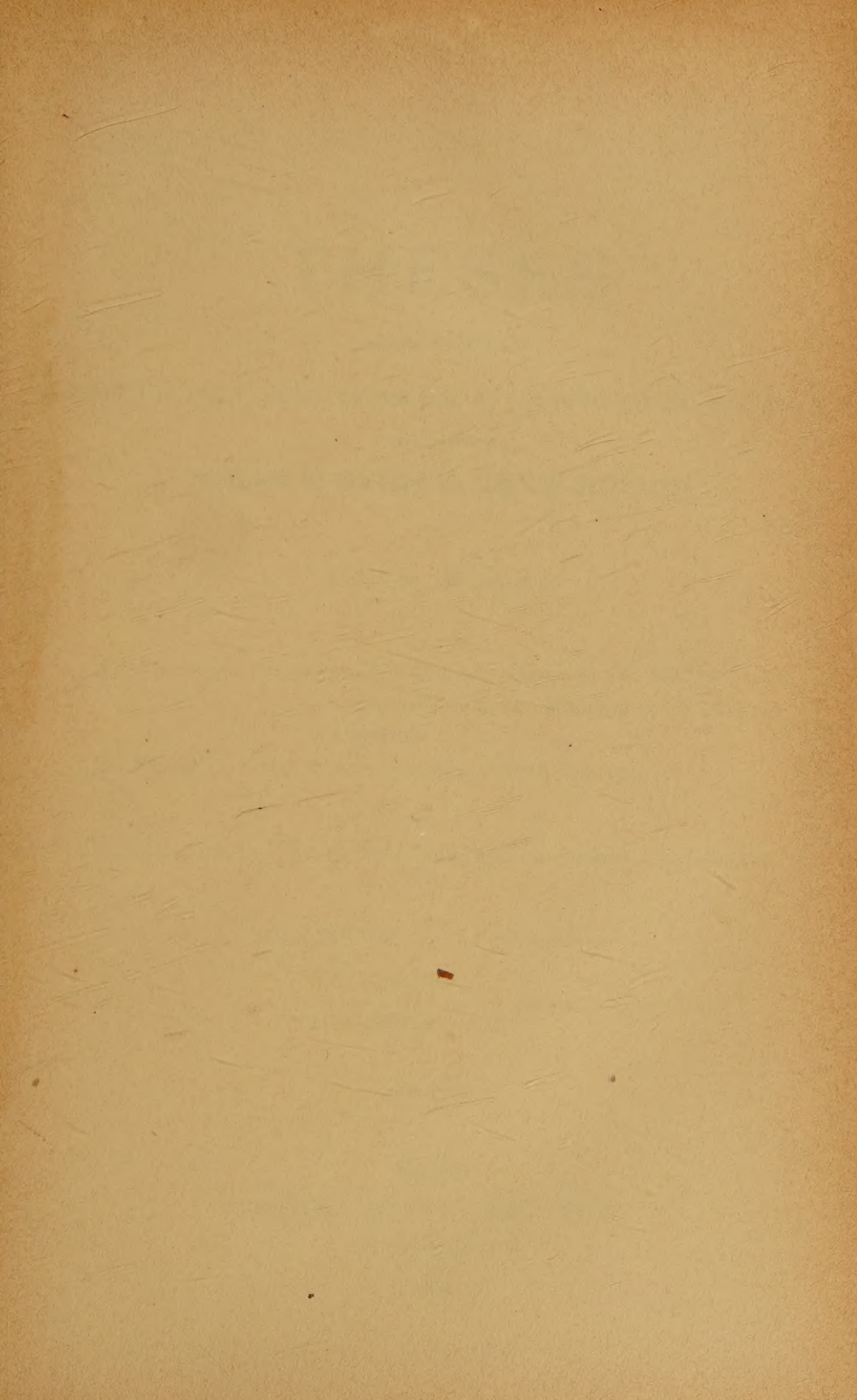


PARIS

HENRI JOUVE, EDITEUR

15, RUE RACINE, 15

1909



SÉRIE A N° 611

N° D'ORDRE

1346

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

JEAN GIAJA

1^{re} Thèse — ETUDE DES FERMENTS DES GLUCOSIDES ET DES HYDRATES
DE CARBONE CHEZ LES MOLLUSQUES ET CHEZ LES
CRUSTACÉS.

2^e Thèse — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 23 Juin 1909, devant la Commission d'examen

MM. DASTRE *Président*

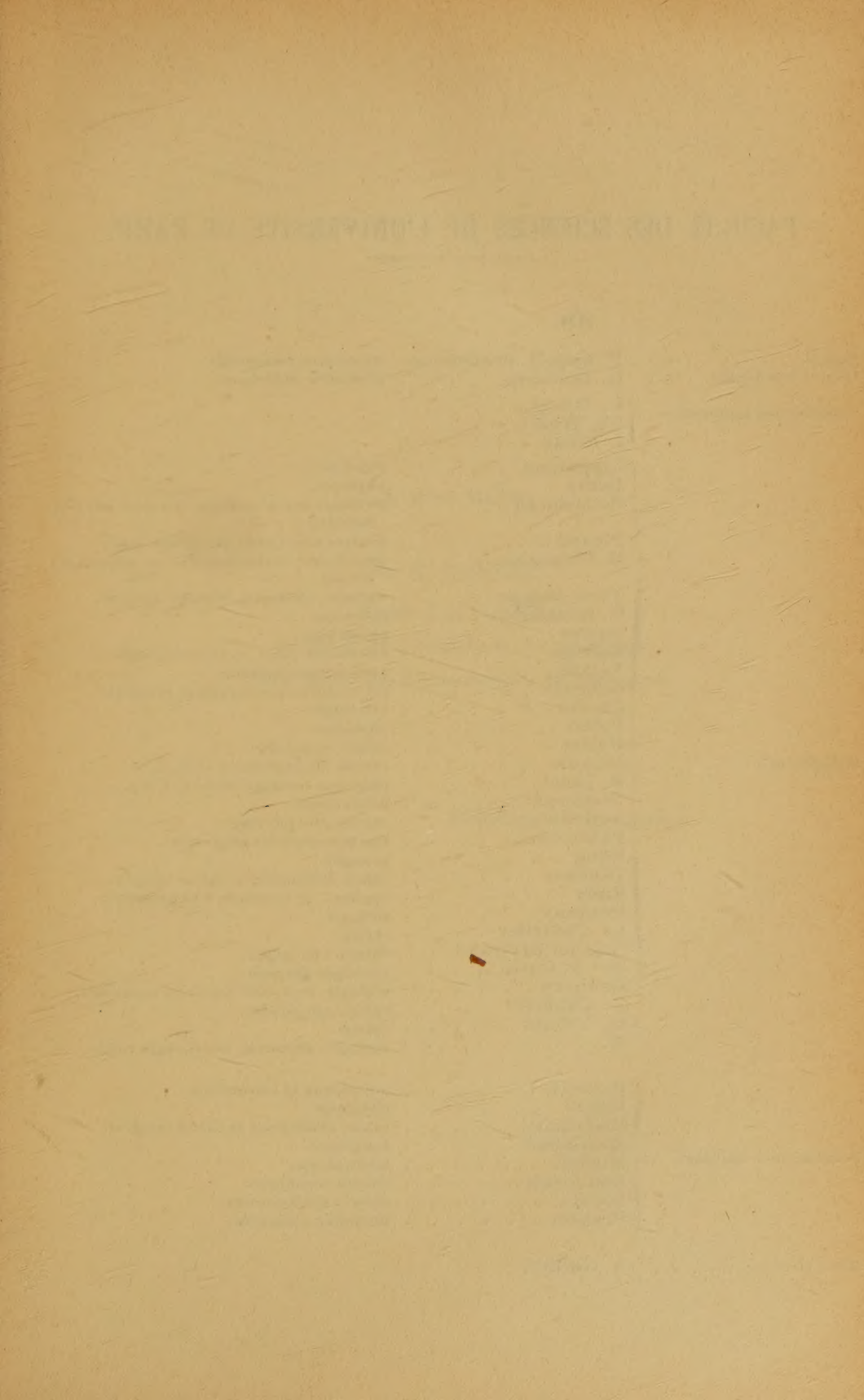
WALLERANT .
MOLLIARD . . . } *Examineurs*

PARIS

HENRI JOUVE, EDITEUR

15, RUE RACINE, 15

1909



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen,	P. Appell, Professeur.	Mécanique rationnelle.
Doyen honoraire.	G. Darboux.	géométrie supérieure.
Professeurs honoraires.	L. Troost.	
	Ch. Wolf.	
	J. Riban	
	Lippmann	physique.
	Bouty	physique.
	Boussinesq	physique mathématique et calcul des probabilités.
	Picard	analyse supérieure et algèbre supér.
	H. Poincaré.	astronomie mathématique et mécanique céleste.
	Yves Delage	zoologie, anatomie, physiol. compar.
	G. Bonnier	botanique
	Dastre	physiologie.
	Kœnigs	mécanique phys. et expérimentale.
	Vélain	géographie physique.
	Goursat	calcul différentiel et calcul intégral.
	Chatin	histologie.
	Pellat	physique.
	Haller	chimie organique.
Professeurs	Joannis	chimie (enseignement P. C. N.).
	P. Janet	physique (enseignement P. C. N.).
	Wallerant	minéralogie.
	Andoyer	astronomie physique.
	Painlevé,	mathématiques générales.
	Haug	géologie.
	Tannery	calcul différentiel et calcul intégral.
	Raffy	applicat. de l'analyse à la géométrie.
	Houssay	zoologie
	Le Chatelier	chimie.
	Gabriel Bertrand	chimie biologique.
	M ^{me} P. Curie	physique générale.
	Caullery	zoologie, évolution des êtres organisés.
	C. Chabrié.	chimie appliquée.
	G. Urbain	chimie.
	N.	zoologie, anatomie, physiologie comp.
Professeurs adjoints.	Puiseux	mécanique et astronomie.
	Leduc.	physique.
	Hadamard	calcul différentiel et calcul intégral.
	Matruchot,	botanique.
	Michel.	minéralogie.
	Bouveault	chimie organique.
	Borel	théorie des fonctions.
	Pruvot.	anatomie comparée.
Secrétaire.	A. Guillet,	

A mon Maître

M. A. DASTRE

Membre de l'Institut

Membre de l'Académie de Médecine

Professeur de Physiologie à la Sorbonne

Hommage respectueux.

PRÉFACE

Ce travail n'est pas une étude de la digestion chez les Mollusques et chez les Crustacés, mais une étude de quelques propriétés diastasiques de leurs liquides digestifs. En effet, nous avons cherché dans les sucs digestifs de ces animaux des ferments d'un certain nombre de substances chimiquement bien déterminées (glucosides, hydrates de carbone et leurs dérivés) sans nous préoccuper de la présence ou de l'absence de ces substances dans la nature ou dans l'alimentation de l'animal.

Le seul réactif permettant de déceler un ferment est la substance envers laquelle il est actif, ou l'une de ces substances si son action est multiple; l'étude des ferments n'est possible que par l'intermédiaire de ces substances. Or, lorsqu'on possède une série de corps de composition chimique bien déterminée et unis entre eux par des liens plus ou moins étroits de parenté chimique, on a là un précieux moyen d'investigation des actions diastasiques. En cherchant dans différents liquides fermentaires quelles sont les actions diastasiques qu'on constate toujours présentes

simultanément, et quelles sont d'autre part celles qu'on peut trouver indépendantes les unes des autres, on arrive à des notions sur le degré de leur spécificité et sur la relation de cette spécificité avec la composition chimique, la structure stéréochimique, etc., des corps sur lesquels elles s'exercent. D'autre part, on peut obtenir dans certains cas, à l'aide de ferments, des hydrolyses qu'on ne réussit pas à obtenir à l'aide d'agents chimiques et qui nous renseignent souvent sur la structure chimique de ces corps attaqués par les ferments. Les recherches poursuivies jusqu'à présent dans ce sens ont incontestablement le plus contribué à nos connaissances sur les phénomènes diastasiques. Le présent travail est une contribution à l'étude des actions diastasiques dans cette même voie.

*Nos recherches ont eu aussi pour but de solutionner la question suivante que nous nous étions posée : Ne trouverait-on pas chez des animaux inférieurs cette extraordinaire multiplicité et cette diversité d'actions diastasiques qu'on a découvertes chez les végétaux inférieurs, les levures et les champignons en particulier ? On a trouvé, chez les levures, de nombreux ferments des hydrates de carbone ; Em. Fischer a constaté l'activité des extraits de levures envers de nombreux composés synthétiques découverts par lui (sucres, glucosides, osones, etc.) Parmi les champignons, l'*Aspergillus niger* a été l'objet d'une étude très*

approfondie de Bourquelot et Hérissé. Lorsqu'on remplace, sous une culture de cette Mucédinée, le liquide nutritif par de l'eau distillée, l'Aspergillus secrète de nombreux ferments : on obtient ainsi ce que les deux auteurs précédents nomment liquide fermentaire d'Aspergillus. On a trouvé dans ce liquide fermentaire presque tous les ferments des hydrates de carbone et des glucosides, connus jusqu'à présent.

En ce qui concerne les animaux, il n'y a que les animaux supérieurs, les Mammifères surtout, qui ont été l'objet de recherches de différents ferments. On a constaté que le nombre de ferments des hydrates de carbone était restreint chez ces animaux. A part l'amidon, le maltose, le glycogène, le saccharose, le lactose et le tréhalose, aucun autre hydrate de carbone n'a pu être dédoublé jusqu'à présent par les ferments du Chien.

*Quant aux animaux inférieurs ils n'avaient été l'objet que de recherches très peu nombreuses. On ignorait donc si chez eux les ferments ne sont pas plus nombreux que chez les animaux supérieurs ou au contraire s'ils se trouvent en nombre aussi considérable que chez certains végétaux inférieurs. A cette question nous donnons une réponse nette : Il existe de nombreuses activités diastasiques chez certains animaux inférieurs. Dans le suc digestif d'Escargot (*Helix pomatia*) par exemple, nous avons trouvé des*

activités diastasiques envers les glucosides, les hydrates de carbone et les dérivés de ces derniers, activités plus nombreuses encore que celles observées dans le liquide fermentaire d'*Aspergillus*. Le suc digestif d'*Helix* n'est pas remarquable seulement par le nombre considérable d'activités diastasiques qu'il peut exercer, mais il l'est aussi, comme on le verra, par l'intensité de la plupart de ces activités.

Nous avons donc découvert, dans le suc d'*Helix*, une nouvelle source des ferments les plus divers des hydrates de carbone et des glucosides. On sait que, par l'électivité de leur action, les ferments sont de précieux agents d'hydrolyse qu'on utilise souvent en chimie et que, d'autre part, lorsqu'on découvre de nouveaux composés organiques tels que sucres et glucosides, on recherche de suite à en obtenir un déboulement diastasique. Jusqu'à présent c'est aux levures ou à l'*Aspergillus* qu'on s'adressait le plus souvent. On pourra désormais avec raison s'adresser au suc digestif d'*Helix*, qui est un liquide fermentaire des plus faciles à se procurer. M. G. Seillère (1) avait déjà signalé en 1905

(1) G. SEILLIÈRE. Sur la présence d'une diastase hydrolysant la xylane dans le suc gastro-intestinal de l'Escargot. Comp. rend. Soc. Biol. LVII, I, 1905, 409.

G. SEILLIÈRE. Sur un cas d'hydrolyse diastasique de la cellulose du coton après dissolution dans la liqueur de Schweitzer. Comp. rend. Soc. Biol. LXI, 1906, 205.

la présence dans le suc d'*Helix* d'un ferment hydrolysant les xylanes, c'est-à-dire une xylanase, et d'un ferment saccharifiant la cellulose du coton préalablement traitée par la liqueur de Schweitzer. Avec M. Bierry, nous avons mis à profit les nombreuses activités diastasiques de ce suc pour l'étude du dédoublement de quelques composés tels que le raffinose, le stachyose, le gentianose, l'amygdaline, etc. D'autre part nous avons obtenu par ce suc une hydrolyse de quelques composés dont on n'avait jamais signalé de dédoublement diastasique, tels que l'acide lactobionique, l'acide maltobionique, la lactosazone et la maltosazone.

Pour ces deux osazones c'était la première fois qu'on signalait une pareille hydrolyse en général, celle-ci n'ayant pu être effectuée par les agents chimiques.

Les recherches qui font l'objet du présent travail ont été poursuivies au Laboratoire de Physiologie de la Sorbonne et à la Station Biologique de Roscoff, pendant les années 1905-1909. Je suis heureux de prier ici mon Maître, Monsieur le Professeur Dastre, d'agréer l'expression de ma profonde gratitude et de mon respectueux attachement pour la bienveillance qu'il n'a cessé de me témoigner. Je prie également Monsieur le Professeur Delage, directeur de la Station

Biologique de Roscoff de bien vouloir croire à toute ma reconnaissance.

Un grand nombre des résultats que je vais exposer dans les pages qui suivent résultent de ma collaboration avec mon excellent ami M. H. Bierry. J'ai largement profité de ses conseils et de son expérience. Ce m'est un plaisir de l'assurer ici de ma vive amitié.

M. Victor Henri, maître de conférences à l'Ecole des Hautes Etudes, a suivi mes recherches avec une constante bienveillance et m'a donné de nombreux conseils. Je le prie de croire à ma sincère reconnaissance.

Je prie également M. P. Portier, directeur-adjoint du Laboratoire de Physiologie de la Sorbonne, d'agréer mes bien vifs remerciements pour m'avoir obligé par des conseils et des actes.

Je dois encore tous mes remerciements à MM. les Professeurs de la Faculté de Philosophie de l'Université de Belgrade, et tout particulièrement à M. le Docteur J. Georgévitch, Professeur de Zoologie à la dite Université, pour tout l'intérêt qu'ils m'ont prouvé en m'obligeant à plusieurs reprises.

INTRODUCTION

Lorsque l'on étudie les actions diastasiques produites sur un groupe de corps chimiques assez voisins les uns des autres, comme le sont par exemple les glucosides et les hydrates de carbone, et que d'autre part les liquides diastasiques étudiés exercent des actions sur plusieurs de ces corps différents, la question se pose d'elle-même de savoir si l'on a affaire à autant de ferments différents qu'il y a de corps qui sont transformés par un liquide ou bien si plusieurs de ces actions peuvent être attribués à un même ferment.

C'est cette question de la *spécificité des ferments*, ou plutôt des méthodes employées pour la déterminer, que nous allons examiner dans cette introduction où elle trouve tout naturellement sa place en tête d'un travail qui s'occupe précisément de liquides digestifs à actions diastasiques multiples.

I. — Méthode de séparation. — Une preuve directe que deux actions diastasiques exercées par un liquide sont attribuables à deux ferments distincts serait donnée dans le cas où on réussirait à isoler de ce milieu deux substances dont chacune n'exercerait plus qu'une seule de ces deux actions.

Malheureusement, cet isolement des ferments est une chose restée impossible jusqu'à présent, et cela pour plusieurs raisons. On sait que les ferments sont des substances très fragiles envers les agents chimiques et physiques ; de telle façon qu'on ne peut employer qu'un nombre restreint de ceux-ci dans le but de séparer des actions diastasiques les unes des autres sans les détruire. Ensuite, il est certain que les ferments ne sont représentés dans les milieux qui les contiennent que par des quantités de substance relativement très petites ; si on ajoute de plus que la véritable nature chimique des ferments nous est totalement inconnue, mais qu'il s'agit en tout cas comme tout porte à le croire de substances colloïdales, par conséquent non cristallisables, on comprendra que l'isolement des ferments est un problème présentant plus de difficultés encore que celui de l'isolement des terres rares et des substances radioactives.

On a employé plusieurs procédés dans le but de sé-

parer les ferments les uns des autres : la dialyse, la diffusion, la précipitation fractionnée, l'entraînement par des précipités de diverses natures, le pouvoir adsorbant de certaines substances, etc. Tous ces procédés ont été employés par exemple par R. Glaessner (1) dans le but de séparer le lab de la pepsine et par d'autres auteurs dans d'autres cas, mais on n'a obtenu que des résultats peu satisfaisants ; on ne parvient pas à séparer nettement deux actions diastasiques l'une de l'autre, car ou bien il y en a une de détruite, ou bien on obtient des mélanges des deux ferments, dans lesquels c'est tantôt l'une tantôt l'autre action qui prévaut par son intensité.

En résumé, on ne peut pas se servir de cette méthode pour décider le degré de spécificité d'une action diastatique.

II. — Méthode de destruction partielle. — Au lieu de séparer l'une de l'autre deux actions diastasiques produites par un même liquide, on peut souvent en détruire l'une en laissant subsister l'autre plus ou moins affaiblie. Cette séparation de certaines actions diastasiques au détriment d'autres peut se faire sous l'action

(1) R. GLAESSNER. *Ueber die Vorstufen der Magenfermente. Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie* 1, 1902, 1.

d'agents chimiques ou physiques. On sait que certaines substances peuvent annuler une action diastasique tout en en laissant subsister d'autres. Ainsi, par exemple, Brachin a montré que l'acide acétique employé à une certaine dose annule complètement l'action de l'extrait d'amandes amères sur le lactose mais laisse subsister l'action sur l'amygdaline. Mais c'est surtout la chaleur qui est employée comme agent de séparation des actions diastasiques.

On sait que tous les ferments sont détruits à une certaine température variable d'un ferment à un autre. En chauffant progressivement un liquide qui peut exercer plusieurs actions diastasiques, celles-ci après avoir été de plus en plus affaiblies se détruisent à des températures souvent éloignées l'une de l'autre, de telle façon qu'on peut dans beaucoup de cas isoler une action diastasiqne au détriment d'une autre. Dans ce cas on conclut généralement que ces deux actions diastasiques sont dues à deux ferments distincts.

Quelle est la valeur de cette méthode ? Le fait que deux actions diastasiques sont détruites à des températures différentes, n'est pas, pensons-nous, une preuve suffisante qu'elles sont dues à des ferments distincts. Supposons un ferment ayant la propriété d'hydrolyser deux corps, deux glucosides par exemple. Ces deux

actions ne sont pas absolument identiques puisque les deux corps sur lesquels elles s'exercent sont eux-mêmes différents ; leur mécanisme ne peut pas être exactement dans les deux cas. Faut-il alors s'étonner qu'un agent le même physique ou chimique n'agit pas exactement de la même façon sur les deux actions ? Non ; au contraire, on doit même s'y attendre.

Cette méthode en dehors du principe sur lequel elle repose, principe qui est d'une valeur contestable, présente aussi des incertitudes au point de vue pratique. S'il est vrai que, pour certaines actions diastasiques, la destruction par la chaleur est séparée de 15° - 25° , dans la grande majorité des cas, cette destruction se fait à des températures très voisines, de telle façon qu'on obtient la disparition complète de l'une des actions tandis que l'autre est tellement affaiblie qu'elle se manifeste à peine. On ne peut donc rien conclure de précis dans ces cas.

Cependant cette méthode a été employée par la plupart des auteurs qui se sont occupés de spécificité diastatique, sans qu'elle fut discutée dans la majorité des cas.

III. — Méthode de comparaison. — Lorsqu'un liquide exerce des actions diastasiques sur deux corps diffé-

rents et qu'on veut savoir si l'on a affaire à deux ferments ou à un seul, on cherche l'action produite par d'autres liquides sur les mêmes corps et on compare entre elles les actions de ces différents liquides fermentaires. On examine alors s'il ne se trouve pas de liquide qui agisse sur l'un des deux corps et n'agit pas sur l'autre ; dans le cas où on rencontre un pareil liquide on décide que les deux actions diastasiques sont produites par deux ferments distincts.

Prenons un exemple : Em. Fischer a trouvé que l'extrait d'amandes amères qu'on désigne sous le nom d'emulsine, possède la propriété d'hydrolyser en dehors des glucosides, le lactose et il attribue toutes ces actions à un seul ferment. Bourquelot, par contre, attribue l'hydrolyse du lactose à un ferment distinct de celui hydrolysant les glucosides ; il y aurait donc, d'après cet auteur, au moins deux ferments distincts dans l'emulsine et il se fonde sur ce fait qu'on peut trouver ailleurs une de ces deux actions diastasiques seule à l'exclusion de l'autre : ainsi le kéfir agit sur le lactose mais n'agit pas sur les glucosides, tandis que le liquide fermentaire d'*Aspergillus* attaque les glucosides mais est sans action sur le lactose.

Ces mêmes faits de la présence simultanée de deux actions diastasiques dans un même milieu, tandis qu'un

autre n'en possède qu'une seule, peuvent être interprétés d'une autre façon et alors on arrive à des conclusions opposées. Ainsi, par exemple, voici comment Fischer interprète des faits en tout semblables à ceux de l'exemple précédent : L'extrait de certaines levures hydrolyse à la fois le maltose, le mélibiose et l' α -méthylglucoside. Fischer attribue ces actions à un seul ferment, la maltase. Cependant il y a des levures, qui attaquent seulement le maltose et n'attaquent pas le mélibiose, de même qu'il y a des maltases, telle que celle du sang de mammifères, qui n'attaque pas les α -glucosides. Au lieu d'attribuer d'après ce fait les dédoublements du maltose, du mélibiose et de l' α -méthylglucoside, à trois ferments distincts contenus dans certaines levures, Fischer les attribue à un seul ferment ; mais il admet qu'il y a plusieurs espèces de ferments du genre maltase, les unes attaquant le mélibiose et l' α -glucoside à côté du maltose, d'autres n'attaquant que le maltose seulement. Tandis que Bourquelot arrive dans un cas à la conclusion que les actions sont exercées par des ferments distincts, dans un autre cas, se basant sur des faits semblables, Fischer attribue plusieurs actions à un seul ferment, mais admet par cela même l'existence de plusieurs espèces de ce ferment. Fischer a choisi cette interprétation parce qu'il pense que l'interprétation de

pluralité des ferments mène à des conclusions insoutenables. « On serait par cela, dit-il, obligé d'admettre qu'il existe dans l'émulsine, par exemple, qui dédouble le β -méthylglucoside, le β -méthylgalactoside, le lactose et l'amygdaline, au moins quatre ferments distincts, ou bien que la levure de bière qui fait fermenter le δ -mannose, δ -glucose, δ -fructose et δ -galactose contient quatre zymases ». Bourquelot par contre n'hésite pas à admettre l'existence de nombreux ferments dans les levures et dans le liquide fermentaire d'*Aspergillus*.

Le choix entre ces deux interprétations est complètement arbitraire, mais il se pose à chaque instant dans l'étude des ferments. Nous verrons qu'il en est de même pour les résultats exposés dans ce travail sans qu'on ait cependant plus de raisons pour se prononcer en faveur de l'une de ces interprétations.

IV. — Méthode des vitesses de réaction. — Cette méthode diffère profondément des précédentes. Elle a été imaginée par V. Henri et Languier des Bancelles (1), et elle repose sur des mesures de vitesse de réactions diastatiques. Des exemples nous montreront en quoi consiste cette méthode. On veut voir, par exemple, si l'action

(1) V. Henri et Languier des Bancelles. Journ. de physiol. et pathol. VI, 1904, 261.

du suc digestif d'*Helix pomatia* sur l'amygdaline et la salicine est due à un ou deux ferments.

On fait les trois mélanges suivants :

I.	II.	III.
Amygdaline 1 gr. 25	Salicine.... 1 gr. 25	Amygdaline 1 gr. 25
Eau 50 cc.	Eau..... 50 cc.	Salicine.... 1 gr. 25
Suc d'Helix 0 cc. 5	Suc d'Helix 0 cc. 5	Eau..... 50 cc.
		Suc d'Helix. 0 cc. 5

Après 30 minutes de contact à la température de 38° on dose dans les trois mélanges l'acide cyanhydrique et le sucre reducteur, et on trouve pour :

	I.	II.	III.
C N H	0 gr. 048	0	0 gr. 020
Sucre	0 gr. 350	0 gr. 156	0 gr. 218

En somme on constate que dans le mélange III contenant les deux glucosides il y a, à en juger d'après CNH, moitié moins d'amygdaline hydrolysée que dans I ou l'amygdaline était seule en présence d'une même quantité de ferment. D'autre part, d'après le sucre réducteur on constate dans III la même chose pour la salicine dont une quantité environ moitié moindre que dans II a été hydrolysée. Les choses se sont donc passées comme si le ferment s'était partagé dans III entre l'amygdaline et la salicine. Ces deux actions seraient dues par conséquent à un seul ferment.

Les résultats sont tout à fait différents si on expérimente d'une façon semblable avec l'amygdaline, le saccharose et le sucre d'Helix. On constate dans ce cas que dans la solution contenant le saccharose et l'amygdaline, ces deux substances ont été hydrolysées dans les mêmes proportions que dans les solutions où ces corps se trouvent seuls en présence d'une même quantité de suc. Dans ce cas le ferment en présence du mélange de saccharose et d'amygdaline, au lieu de partager son action entre les deux substances, les a hydrolysées dans les mêmes proportions que lorsqu'il est en présence de ces substances séparément. On voit donc qu'une même quantité de suc à exercé, en présence du mélange des deux substances, une action double de celle qu'elle exerce en présence d'une seule de ces deux substances. Dans ce cas on conclut que les deux actions sont dues à deux ferments distincts.

Toutes ces expériences doivent être faites avec des solutions d'une telle concentration, que celle-ci n'ait plus d'influence sur la vitesse de réaction.

Lorsqu'on obtient par cette méthode des résultats dans le sens de ce second exemple amygdaline-saccharose, on a là vraiment les raisons les plus sérieuses pour attribuer les deux actions à deux ferments distincts. Ces faits sont plus probants que la séparation par la

chaleur ; car, comment expliquer ce fait qu'une même quantité de liquide digestif puisse faire, lorsqu'elle se trouve en contact de deux substances, une action quantitativement double de celle qu'elle est capable de produire en contact d'une de ces substances seulement, sinon d'admettre que ces deux substances sont attaquées par des ferments distincts.

Mais lorsqu'on obtient des résultats dans le sens du premier exemple que nous avons donné, amygdaline-salicine, où l'action du ferment se partage entre les deux substances contenues dans le mélange, on peut toujours faire l'objection que ces substances peuvent exercer réciproquement sur leurs ferments des actions empêchantes.

En somme les résultats qu'on obtient par cette méthode ont beaucoup plus de valeur lorsqu'ils parlent en faveur de ferments distincts que lorsqu'ils sont de sens contraire.

De ce que nous venons brièvement d'exposer sur les méthodes que nous possédons pour juger si des actions diastasiques sont attribuables à un ou plusieurs ferments, et sur la valeur respective de ces méthodes, il est clair qu'on est dans l'impossibilité de déterminer avec certitude à quels et à combien de ferments attri-

buer les actions qu'exerce un seul liquide. Les auteurs qui sont arrivés à diverses conclusions en se servant de ces méthodes, à défaut de meilleures, se faisaient peu d'illusion, il nous semble, sur la valeur de ces méthodes. Aussi, au cours de ce travail, nous ne nous prononcerons pas d'une façon catégorique sur la question, à quels ferments sont attribuables les actions diastasiques que nous constaterons. Dans certains cas nous avons appliqué les méthodes que nous venons de discuter pour savoir à quels résultats elles nous conduiraient. Si nous en avons tiré quelques conclusions relatives à la spécificité, nous l'avons fait tout en n'oubliant pas la valeur relative qu'elles peuvent avoir.

Il est certain qu'au point de vue de l'analyse des actions diastasiques il serait d'un intérêt capital de savoir exactement quel est le degré de spécificité d'un ferment. En effet, on pourrait alors chercher les relations qui existent entre les corps attaqués par un même ferment, soit dans leur composition chimique, soit dans leur structure stéréochimique, etc. Ce n'est qu'alors qu'on pourrait établir d'une façon précise les lois qui régissent l'électivité des actions diastasiques.

CHAPITRE PREMIER

Procédés employés pour recueillir les sucs digestifs

Nous avons cherché des ferments de glucosides et d'hydrates de carbone dans le suc digestif des Mollusques (1) et des Crustacés ; il n'y a que l'émulsine qui a été recherchée dans les macérations d'hépatopancréas de quelques Mollusques.

Le liquide coloré qu'on trouve en plus ou moins grande quantité dans le tube digestif des Mollusques (Gastéropodes et Lamellibranches) et des Crustacés Décapodes, appelé « bile » par les anciens auteurs, est formé presque exclusivement par la sécrétion hépatopancréatique. En effet, chez les Crustacés, l'hépatopancréas est la seule glande qui soit en communication

(1) Nous entendrons au cours de ce travail par Mollusques, les Gastéropodes et les Lamellibranches à l'exclusion des Céphalopodes, nos recherches ayant porté sur les deux premières classes de Mollusques seulement.

avec la lumière du tube digestif, tandis que, chez les Mollusques, à cette glande viennent souvent s'ajouter des glandes salivaires de faibles dimensions par rapport à l'hépto-pancréas et déversant comme celui-ci leur sécrétion dans le tube digestif.

La sécrétion hépto-pancréatique de ces animaux doit être considérée comme étant un liquide digestif fournissant les ferments nécessaires à la digestion. C'est à tort qu'on l'a assimilée à la bile des Vertébrés avec laquelle elle n'a aucune analogie réelle ; les pigments biliaires et les sels biliaires y font complètement défaut.

Nous désignerons sous le nom de *suc digestif* la sécrétion, ou l'ensemble de sécrétions, constituant le suc qu'on trouve dans le tube digestif des Mollusques et des Crustacés, pour ne rien préjuger sur son origine.

Il est très aisé de recueillir le suc digestif de certains Mollusques tels que *Helix pomatia* et l'*Aplysie*, à cause de la taille relativement grande de ces Mollusques. Mais nous avons aussi recueilli du suc digestif en faibles quantités chez d'autres Mollusques, tels que *Arion rufus*, *Lymnea stagnalis*, *Planorbis corneus*, etc.

Voici la façon dont nous opérons pour recueillir le suc digestif d'*Helix* : On découpe avec de forts ciseaux deux spires et demie de la coquille et on s'arrête à ce niveau en coupant la columelle. L'animal ainsi débar-

rassé d'une partie de sa coquille est saisi d'une main par son pied et de l'autre par le reste de coquille ; par une légère traction on détache le muscle columellaire et le tube digestif apparaît sur une partie comprise entre le bulbe buccal et l'hépto-pancréas. On le soulève à l'aide d'une sonde cannelée et par une légère traction il se rompt *toujours* au niveau de l'hépto-pancréas. Avec un peu d'adresse on arrive facilement à égoutter le suc digestif dans une éprouvette surmontée d'un entonnoir, sans qu'il soit souillé par le mucus ou le sang. Pour avoir du suc pur, il est nécessaire de laisser les animaux à jeun pendant quelques jours et de les laver tous les jours afin de les débarrasser de leurs excréments dont ils ingèrent de nouveau les particules qui ont résisté à la digestion. Lorsque les *Helix* sont en hibernation ils ne contiennent que très peu de suc ; afin d'en augmenter la quantité nous débarrassions les animaux de l'épiphragme qui ferme leur coquille et nous les placions dans une atmosphère humide à la température de 20° environ. Dans ces conditions, les animaux ne tardent pas à se réveiller et à sortir de leur coquille ; ils se mettent à sécréter du suc dont le rendement est ainsi 3-4 fois plus grand que chez les animaux en hibernation.

Pour recueillir le suc digestif d'*Aplysie*, on incise

l'animal sur la ligne médiane de la partie ventrale ; en pressant légèrement, le tube digestif fait saillie à l'extérieur ; on l'incise d'un coup de ciseaux tout en le maintenant au-dessus d'une éprouvette surmontée d'un entonnoir. Le suc est ainsi recueilli pur sans être mélangé avec la sécrétion pourpre des glandes palléales.

En ce qui concerne les Crustacés, nous recueillions leur suc digestif en les sondant vivants par la bouche. Stamati (1), sur les conseils de M. Dastre, avait recueilli le suc digestif de l'Ecrevisse à l'aide de fistules stomacales permanentes. Ce procédé n'était pas avantageux pour notre genre de recherches, car nous avions besoin de suc pris sur de nombreux individus, et se rapprochant autant que possible de la sécrétion digestive normale de ces animaux.

Le procédé consistant à sonder les animaux par la bouche est excessivement commode à tous les points de vue. Il permet de recueillir le suc digestif de Crustacés de toute taille ; d'autre part, il permet de recueillir une sécrétion physiologique, car l'opération de sondage peut être effectuée à l'instant même où on capture les animaux.

Les deux grands lobes de l'hépto-pancréas des

(1) STAMATI, *Recherches sur le suc gastrique de l'Ecrevisse*. Compt. rend. Soc. Biol. 1888, 16.

Crustacés Décapodes situés au-dessous et de chaque côté du tube digestif, déversent leur sécrétion dans celui-ci par l'intermédiaire de deux canaux débouchant dans la partie pylorique de l'estomac. L'intestin étant très court chez les Crustacés, la presque totalité du suc digestif se trouve localisée dans l'estomac, qui fait presque immédiatement suite à la bouche, l'œsophage des Crustacés étant pour ainsi dire virtuel. Cette particularité rend très faciles les sondages de ces animaux par la bouche.

Dans le but de recueillir le suc digestif des Crustacés nous opérions de la façon suivante : L'animal est immobilisé sur le dos. On écarte les appendices masticateurs à l'aide d'une pince, et on les tient écartés pendant toute l'opération, car sans cela les Crustacés de forte taille auraient vite fait de broyer la sonde. On introduit ensuite avec précaution dans l'estomac une pipette en verre, effilée ; l'estomac se contracte au contact de la sonde et on voit le suc digestif monter dans celle-ci. En aspirant par la pipette on vide complètement l'estomac de son suc.

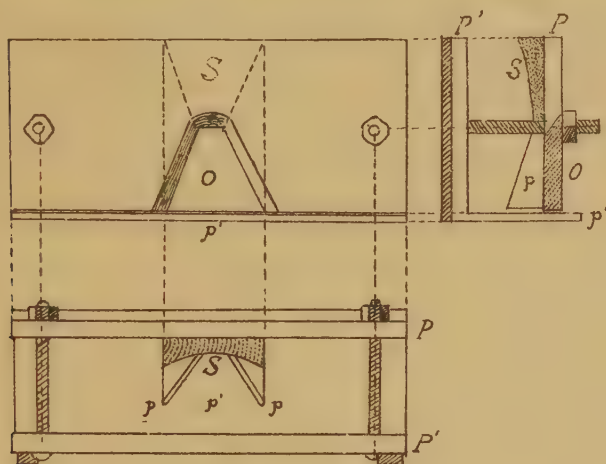
Ce procédé permet de recueillir du suc de Crustacés de très petite taille (Pagures de quelques centimètres de long), de même que de très grands Crustacés, en se servant de sondes plus ou moins effilées.

Dans le cas de ces derniers, la principale difficulté de l'opération est d'immobiliser l'animal. Les grands Crustacés, tels que les *Platycarcinus* et les Homards, sont doués d'une force musculaire considérable qui ne laisse pas d'être dangereuse pour l'opérateur. Afin qu'il soit possible à un seul opérateur d'exécuter facilement des sondages de gros Crustacés en peu de temps, nous avons construit avec M. F. Vlès (1) un appareil de contention pour ces animaux, dont nous donnons une description succincte.

Comme le montre la figure ci-jointe, l'appareil est composé de deux fortes planches *P*, *P'*, de 70^{cm} de long sur 25 de large, traversées par deux grands boulons, fixés dans l'une d'elles *P'* et jouant librement dans les trous de l'autre *P*, qui permettent de rapprocher les planches au moyen d'un serrage d'écrous. L'une des planches *P* est percée d'une grande ouverture trapézoïdale *O* par laquelle se feront les opérations de sondage (écartement des appendices masticateurs et introduction d'une pipette dans l'estomac) ; elle porte, en outre, une selle en bois *S*, également trapézoïdale, destinée à appuyer sur le céphalothorax de l'animal opéré. Les

(1) J. GIAJA et F. VLÈS, *Sur un appareil de contention pour les Crustacés décapodes*. Bull. soc. zoologique de France, XXXII, 1907, 127.

deux trapèzes de l'ouverture et de la selle sont adjacents par leur plus petit côté, de telle sorte que de petits Crabes peuvent prendre place dans l'appareil aussi bien que les grands et être retenus par une région de la selle en rapport avec leurs dimensions. Deux planchettes p, p , perpendiculaires à la planche P , bordent l'ouver-



Plan de l'appareil.

ture de façon à emprisonner les pattes de l'animal, en particulier les pinces, et les empêcher de venir dans le champ opératoire. Une autre planchette p' ferme complètement un des côtés du système, formant ainsi une sorte de boîte déformable, et protégeant les bras de l'opérateur.

Une seule personne peut manœuvrer l'appareil sans difficulté : les planches écartées et posées verticalement sur la planchette *p'*, l'opérateur glisse sous la selle le Crustacé qu'il tient par les deux pinces, jusqu'à amener l'organe visé (ici la bouche) sous l'ouverture. Les pattes de l'animal viennent se loger dans l'espace laissé sur les côtés de la selle, les pinces buttent contre la planchette *p'* et le céphalothorax s'appuie sur la selle. L'opérateur lâche alors l'animal, renverse l'appareil sur la planche *P'*, et serre les écrous jusqu'à immobilisation complète. Dans le cas de petits Crabes, il est bon de mettre un coussinet de coton sur la planche *P'*, pour éviter des fractures de la carapace au cas où le serrage des écrous serait trop brutal.

Nous avons employé cet appareil pour des Crabes de toutes tailles, depuis les petits *Carcinus maenas* (céphalothorax de 4-5 centimètres de diamètre), jusqu'aux gros *Cancer pagurus* (céphalothorax de 30-35 centimètres de diamètre), fort dangereux à opérer autrement ; également pour des *Maia*. Des Macroures (Homards, Langoustes) ont aussi pu être immobilisés facilement, grâce à une légère rigole de la selle, qui permet d'arrêter leur céphalothorax long et étroit.

Remarquons qu'il faut autant que possible recueillir le suc digestif sur des animaux se trouvant dans de bon-

nes conditions physiologiques, car nous avons eu, au cours de nos recherches sur les crustacés, plusieurs exemples de la disparition de ferments dans leurs sucs à la suite de leur séjour dans les aquariums. Toutes les fois que les circonstances le permettaient, nous recueillions le suc digestif des crustacés sur les lieux mêmes où on les capturait, mais si cela était impossible, on le faisait dès que les animaux étaient apportés au Laboratoire.

CHAPITRE II

Dédoublement diastasique des Glucosides

LES GLUCOSIDES

Sous le nom de *glucosides* on désigne les nombreuses substances qui se décomposent sous l'action de certains agents (acides, ferments,...) en un sucre et en un ou plusieurs autres corps, tels que phénols, aldéhydes, alcools, acides, etc. Le sucre est généralement représenté par du glucose, mais il y a des glucosides qui dérivent d'autres hexoses ou de pentoses. Lorsque la molécule glucosidique contient deux ou plusieurs molécules de monoses, celles-ci peuvent apparaître dans le dédoublement soit sous forme de polyose, soit libres, suivant l'agent qui a déterminé le dédoublement. Ainsi, la xanthorhamnine, d'après les travaux de C. et G. Tanret⁽¹⁾,

(1) C. et G. TANRET. Bulletin de la Soc. chimique de Paris (3) 21, 1899, 1065.

hydrolysée par les acides chauds, donne de la rhamnétine, du rhamnose et du galactose ; mais sous l'action d'un ferment, la *rhamninase*, ce même glucoside donne de la rhamnétine et un triose, le rhamnino-ribose, qui sous l'influence des acides est hydrolysé à son tour, en deux molécules de rhamnose et une molécule de galactose. Un ferment contenu dans le suc digestif d'*Helix* hydrolyse aussi ce triose ainsi que l'a montré récemment H. Bierry (1), qui a nommé ce ferment *rhamnino-rhamnase*.

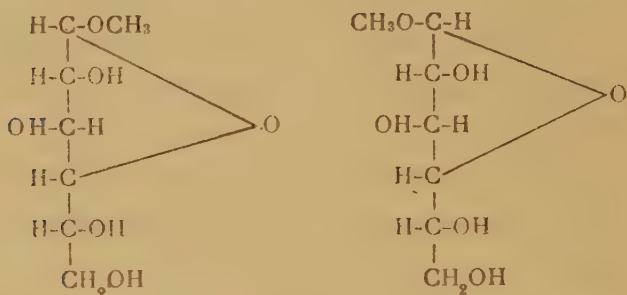
Les glucosides sont des principes immédiats très répandus chez les végétaux. De plus, on en a obtenu de nombreux par synthèse chimique. Les premiers essais de synthèse des glucosides furent ceux de Schützenberger, qui combina le glucose à la salirétine et ceux de Michael qui obtint des combinaisons de monophénols avec du glucose, et une combinaison du glucose à l'aldéhyde salicilique : l'hélicine. Plus tard, Schiff combina le glucose à plusieurs aldéhydes et cétones. On connaît aussi des composés synthétiques, dans lesquels le sucre est uni à des substances azotées ; tels sont : la glucosamine, la glucosanilide, la glucosoamido-guanidine, la lactosanilide, etc. Mais c'est surtout depuis

(1) H. BIERRY. *Dédoublement diastasique du rhamninose*. Compt. rend. Soc. Biol. 1909.

que Em. Fischer a découvert un procédé permettant de combiner les sucres aux alcools, aux polyphénols, aux mercaptans et aux cétones, que le nombre de glucosides synthétiques est devenu considérable. Le principe de ce procédé consiste à laisser en contact les deux corps qu'on veut combiner, après en avoir saturé la solution par de l'acide chlorhydrique gazeux, ou de chauffer, pendant un temps plus ou moins long, cette solution, additionnée d'une faible quantité d'acide chlorhydrique. Les glucosides ainsi obtenus possèdent les mêmes propriétés caractéristiques que les glucosides naturels : Ils ne sont pas réducteurs et ne se combinent pas à la phénylhydrazine (à l'exception de quelques rares glucosides naturels) ce qui signifie, que la fonction aldéhydrique du sucre a dû être masquée dans la combinaison glucosidique. Ce fait, que les glucosides de synthèse ne possèdent pas les réactions caractéristiques des aldéhydes, pourrait les faire considérer comme étant des acétals ; mais il y a une distinction nette entre les acétals et les glucosides : les premiers résultent de la combinaison d'un aldéhyde à deux restes d'alcool, tandis que les glucosides artificiels sont formés par l'union d'une molécule de sucre à un seul reste d'alcool. D'après tout cela, Fischer attribue aux glucosides de synthèse, dérivant d'alcools ou de phénols, une structure dans laquelle le reste d'alcool ou de phénol est

uni à la fonction aldéhydique du sucre. Il en résulte que le carbone de cette fonction aldéhydique, devient asymétrique et que par conséquent toute combinaison de ce genre doit exister sous deux formes stéréoisomériques.

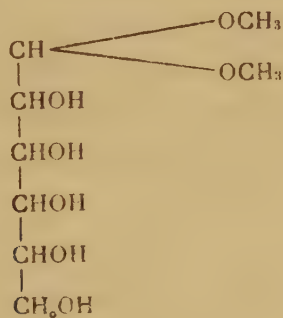
Ainsi le méthylglucoside existerait sous les deux formes suivantes :



On connaît, en effet, ces deux formes stéréoisomériques, que Fischer a nommées respectivement α-méthylglucoside et β-méthylglucoside. Les autres dérivés des sucres, qui ont une structure semblable à celle du méthylglucosides, semblent exister aussi sous deux formes stéréoisomériques. Dans plusieurs cas, ces deux formes ont été isolées, mais dans d'autres cas on n'en connaît qu'une seule ou un mélange des deux. Les deux formes stéréoisomériques d'un glucoside se distinguent par leurs propriétés physiques : point de fusion, solubilité, pouvoir rotatoire ; mais ce qui les distingue particuliè-

ment, c'est la façon dont elles se comportent envers les ferments : Lorsqu'un de ces glucosides artificiels est attaqué par l'émulsine d'amandes, la forme β seule est attaquée, la forme α étant au contraire attaquée par l'extrait de levure, qui n'attaque pas l'autre forme. C'est donc la forme β qui se rapproche à ce point de vue des glucosides naturels.

Nous avons dit que les glucosides dérivant d'alcools étaient, au point de vue chimique, des composés distincts des acétals. Ils s'en distinguent également par la façon de se comporter envers les ferments ; ainsi, le glucose-méthylacétal correspondant au méthylglucoside et ayant la structure suivante



n'est pas dédoublé par l'émulsine.

LES FERMENTS DES GLUCOSIDES

De nombreux glucosides naturels et artificiels peuvent être dédoublés par les ferments. On attribue le dédoublement de la plupart des glucosides à un même ferment : l'*émulsine*. Mais il y en a qui sont dédoublés sous l'influence d'un autre ferment, distinct de l'*émulsine*. Ainsi, la xanthorhamnine est dédoublée par la *rhamnase*, le myronate de potasse par la *myrosine*, la gaulthérine par la *gaulthérase*, etc.

L'*émulsine* est un des premiers ferments qu'on ait découvert. En 1830, Robiquet et Boutron découvrirent l'amygdaline dans les amandes de l'*Amygdalus communis*, var. *amara* (1). Quelques années plus tard, Liebig et Wöhler déterminèrent la composition exacte de ce glucoside et montrèrent qu'il se décomposait en solution aqueuse, sous l'influence d'une substance albuminoïde extraite des amandes amères, en glucose, aldéhyde benzoïque et acide cyanhydrique ; ils nommèrent cette substance : *émulsine*. Ils recherchèrent chez d'autres végétaux une pareille substance capable de dédoubler

(1) ROBIQUET et BOUTRON. *Nouvelles expériences sur les amandes amères*. Ann. de chim. et de phys. XLIV, 1830, p. 332.

l'amygdaline, mais leurs résultats furent négatifs (1). De son côté, Robiquet étudia cette même substance, qu'il nomma « synaptase », au point de vue chimique, pensant avoir isolé le ferment à l'état de pureté. Ainsi fut découverte l'émulsine, ferment qui dédouble non seulement l'amygdaline, mais aussi de nombreux glucosides naturels et artificiels.

Depuis, on a retrouvé l'émulsine chez de nombreux végétaux supérieurs et inférieurs, et on sait à présent que ce ferment est très répandu dans le monde végétal.

On a trouvé l'émulsine chez de nombreuses Phanérogames, particulièrement chez les Rosacées. Bourquelot (2) a signalé le premier sa présence chez les champignons, en la découvrant chez l'*Aspergillus niger*. Gérard (3) l'a signalée dans une autre Mucédinée, le *Penicillium glaucum*. A présent, à la suite des travaux de Bourquelot (4) et Hérissé (5), on sait que ce ferment est très répandu

(1) LIEBIG UND WOHLER. *Ueber die Bildung des Bittermandelols*. Ann. des Chem. und Pharm. XX, p. 1; XXIV, p. 45.

(2) EM. BOURQUELOT, *Ferments solubles sécrétés par l'Aspergillus niger V. Tgh. et le Penicillium glaucum Link.* Bulletin Soc. Biol. 1893, p. 653.

(3) E. GÉRARD. *Présence dans le Penicillium glaucum d'un ferment agissant comme l'émulsine*. Bull. Soc. Biol. 1893, p. 651.

(4) EM. BOURQUELOT. *Présence d'un ferment analogue à l'émulsine dans les Champignons et en particulier dans ceux qui sont parasites des arbres ou vivent sur le bois*. Bull. Soc. mycologique de France. X, 1894, p. 49.

(5) H. HÉRISSEY. *Recherches sur l'émulsine*. Thèse Pharmacie. Paris, 1899.

chez les Champignons; on l'a trouvé aussi chez les Lichens.

L'existence chez les animaux, de ferments du genre de l'émulsine, est aujourd'hui une chose acquise.

Les expériences de Claude Bernard (1), sur l'innocuité de l'amygdaline ingérée ou injectée dans le sang, en petites quantités, ne fournissaient pas des preuves contraires à l'existence de l'émulsine chez les animaux. Car, Claude Bernard a montré lui-même que dans le cas d'une hydrolyse lente de l'amygdaline, il n'y avait pas intoxication de l'animal, les produits toxiques étant éliminés au fur et à mesure de leur production. Ses expériences sont les suivantes : Une solution d'amygdaline, injectée seule dans la jugulaire d'un lapin, ne produit aucun accident, de même qu'une injection d'émulsine seule. Mais si on injecte successivement le glucoside et le ferment, l'animal succombe intoxiqué, à la condition toutefois, que ces deux substances aient été introduites dans le courant circulatoire en assez grande quantité; sans cela, le glucoside ne se dédouble que lentement et l'acide cyanhydrique est éliminé par le poumon, au fur et à mesure de sa production, sans provoquer d'intoxication.

(1) CL. BERNARD. *Leçons sur les effets des substances toxiques et médicamenteuses*. (1857), p. 97.

Une injection intraveineuse d'une solution d'amygdaline, suivie immédiatement d'une injection stomacale d'émulsine, ne provoque aucun accident d'intoxication, « car une barrière infranchissable s'oppose au passage de l'émulsine dans le sang. Mais si vous introduisez simultanément ces deux substances dans l'estomac, de manière qu'elles puissent s'y rencontrer, la réaction a lieu ; l'acide prussique est mis en liberté et absorbé, et l'animal meurt empoisonné. Si, cependant, une demi-heure s'écoule entre l'injection de l'émulsine et celle de l'amygdaline, rien de semblable ne se produit ; le ferment, après avoir été digéré dans l'estomac, est descendu dans le tube intestinal, privé de toutes ses propriétés caractéristiques » (1).

Comme on le voit, les expériences de Claude Bernard n'avaient pas pour but de chercher si l'émulsine existe chez les animaux, mais de donner un exemple d'une action diastasique provoquée dans l'organisme même, en y introduisant le ferment et la substance qu'il attaque ; elles montrent aussi que l'amygdaline ingérée ou injectée seule en petites quantités, n'est pas toxique.

En faisant ingérer à des animaux des plus fortes

(1) CL. BERNARD. *Leçons de Pathologie expérimentale*. Paris, 1890, p. 75.

doses d'amygdaline, Moriggia et Ossi (1) ont montré que ce glucoside était toxique et cela particulièrement pour les herbivores. Ils attribuent cette toxicité à l'acide cyanhydrique provenant de la décomposition de l'amygdaline, qui se ferait sous l'influence d'un ferment contenu dans l'intestin grêle et le cœcum.

Nous avons fait nous-même quelques expériences sur la toxicité de l'amygdaline pour le Lapin. Ces expériences étaient faites avec des solutions d'amygdaline à 3 % qu'on introduisait directement dans l'estomac d'animaux à jeun, à l'aide d'une sonde stomacale. Le poids des animaux variait entre 2 kgr. 200 et 2 kgr. 400. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

<i>Quantité d'amygdaline ingérée</i>	<i>Observations</i>
3 grammes.....	mort après 20 minutes.
0,50.....	mort après 3 h. 1/2.
0,40.....	mort après 5 heures.
0,20.....	survécu.

On voit que l'amygdaline est encore toxique à la dose de 0 gr. 17 environ par kilogramme d'animal. Le contenu intestinal de lapins intoxiqués par l'amygdaline, dégage l'odeur d'essence d'amandes amères, ce qui

(1) MORRIGIA et OSSI. *L'amigdalina, sperienze fisio-tossicologiche.* Atti Acad. Lincei. 1875.

prouve que l'amygdaline a été hydrolysée dans l'intestin. Gérard a montré que la macération d'intestin grêle de Lapin, hydrolyse l'amygdaline ; nous avons constaté la même chose, ainsi que nous l'indiquons plus loin, avec des macérations fluorées, qui hydrolysent l'amygdaline en produisant de l'acide cyanhydrique, de l'aldéhyde benzoïque et du glucose (ce dernier corps n'avait pas été trouvé par Gérard parmi les produits d'hydrolyse).

L'amygdaline est loin d'être aussi toxique pour le Chien qu'elle l'est pour le Lapin. Une ingestion de 10 grammes d'amygdaline par un chien de 10 kilogrammes, ne provoque aucun accident ; 15 grammes provoquent à peine quelques vomissements. En somme, l'amygdaline n'est pas toxique pour le Chien à la dose de 1 gr. 50 par kilogramme d'animal, tandis qu'elle l'est pour le Lapin à la dose de 0 gr. 17 ; elle est donc neuf fois plus toxique pour ce dernier qu'elle ne l'est pour le Chien.

La preuve de l'existence de l'émulsine chez les animaux supérieurs a été donnée par Em. Fischer et W. Niebel (1). Ces auteurs ont trouvé que les macérations aqueuses de muqueuse intestinale de Cheval et de Lapin, en présence de toluol comme antiseptique, dédoublent

(1) EM. FISCHER UND W. NIEBEL. *Ueber des Verhalten der Polysaccharide gegeneinige tierische Secrete und Organe*. Sitzungsberichte d. preussischen Akad. d. Wissenschaften, V, 1896, 73.

assez énergiquement l'amygdaline. Par contre, le sérum sanguin de Cheval et de Bœuf est sans action sur l'amygdaline, de même que la muqueuse stomacale de Cheval et la muqueuse intestinale de ruminants (Bœuf et Mouton).

D'après Grisson (1) cependant, en l'absence de microbes, aucun des sucs suivants, de Chien : salive, suc pancréatique, extrait aqueux d'intestin grêle, bile, ne dédoublent l'amygdaline ; Bourquelot (2) avait déjà montré que, contrairement aux assertions de Staedler, la salive des animaux supérieurs ne contient pas de ferment hydrolysant la salicine.

Depuis les recherches de Frouin et Thomas (3) il n'est plus douteux que l'émulsine existe dans l'intestin des animaux supérieurs. En opérant avec toutes les précautions d'asepsie nécessaire, ces auteurs ont nettement mis en évidence une émulsine dans l'intestin de Chien. De plus ils ont montré que le ferment dédoublant l'amygdaline, présent dans les macérations d'intestin

(1) GRISSON. *Ueber das Verhalten der Glykoside im Thierkörper*. Dissertation. Rostock 1887 (cité d'après Kobert ; Pflüger's Arch. 1903).

(2) EM. BOURQUELOT. *Recherches sur les phénomènes de la digestion chez les Céphalopodes*. Thèse de Doctorat ès-Sciences. Paris, 1885.

(3) A. FROUIN et P. THOMAS. *Sur le dédoublement des glucosides dans l'intestin* C. R. Soc. Biol., 1907, 227 ; P. THOMAS et A. FROUIN. *L'émulsine intestinale chez les animaux supérieurs*. Archives internationales de physiologie, VII, 1909, 302.

de Chien, ne l'est pas dans le suc intestinal pur, de Chien à anse intestinale isolée, débarrassé par centrifugation de ses éléments figurés. Si on laisse le suc un certain temps en contact de ses éléments figurés, il devient actif; de même le dépôt obtenu par centrifugation est actif envers l'amygdaline, l'arbutine et la salicine. On voit donc que cette émulsine de Chien est endocellulaire. C'est une généralisation du fait qu'avaient constaté antérieurement H. Bierry et A. Frouin (1), à savoir que d'autres ferments intestinaux, la lactase, l'invertine et la tréhalase, étaient également localisés dans les éléments figurés du suc intestinal pur.

E. Gérard (2) a montré qu'une macération de rein de Cheval et de rein de Lapin dédoublait la salicine; ce dédoublement serait dû à un ferment précipitable par l'alcool. Un extrait aqueux du foie de Cheval dédouble, d'après le même auteur, l'amygdaline et la salicine. Le pancréas d'un lapin qui a ingéré pendant plusieurs jours avant d'être sacrifié, de la salicine, est inactif envers l'amygdaline, tandis que l'intestin grêle de ce même

(1) H. BIERRY et A. FROUIN. *Rôle des éléments cellulaires dans la transformation de certains hydrates de carbone par le suc intestinal*. Compt. rend. Acad. Sciences, CXLII, 1906, 1565.

(2) E. GÉRARD, *Sur le dédoublement des glucosides par l'extrait aqueux d'organes animaux*. Comptes rend. Soc. Biol. LIII, 1901, 99.

animal dédouble le glucoside, sans qu'il soit toutefois possible de déceler du glucose parmi les produits de dédoublement. L'auteur rapproche ce fait de celui observé par Fermi et Montisano (1), sur le débouplement de l'amygdaline par certains micro-organismes, dans ce cas aussi, le glucose n'étant pas décelable à côté de l'acide cyanhydrique.

Nous avons répété les expériences de Gérard sur le dédoublement de l'amygdaline par l'intestin grêle de Lapin. Les macérations étaient faites dans du fluorure de sodium à 2 %, pour nous mettre à l'abri de toute intervention des micro-organismes. En expérimentant dans ces conditions nous avons trouvé que l'amygdaline et la salicine étaient hydrolysées par le Lapin ; cette hydrolyse s'effectue de la même façon que sous l'action de l'émulsine végétale, par exemple. Contrairement à Gérard, nous avons constaté toutes les fois parmi les produits d'hydrolyse de l'amygdaline et de la salicine, la présence de glucose qui a été caractérisé par son osazone; dosé d'après le pouvoir réducteur il se trouvait en quantité presque théorique par rapport à l'acide cyanhydrique. Notons ensuite que nous avons constaté que la macération fluorée d'intestin de Lapin hydrolyse

(1) FERMI et MONTISANO. *Apotheker Zeitung*, IX, 1894, 534.

aussi la phloridzine, propriété qui a été reconnue absente dans les macérations de rein de ce même animal, par F. Charlier (1).

L'émulsine a été signalée chez les animaux inférieurs par R. Kobert (2). Les extraits aqueux de différents Insectes, d'Araignées, de larves de Fourmis, etc., se sont montrés actifs envers plusieurs glucosides (amygdaline, salicine, hélicine, phloridzine, arbutine, coniférine, esculine, quercitrine). En plus, le même auteur a constaté que le sang d'un Crustacé marin, *Maja squinado*, dédoublait l'amygdaline. En aucun cas il n'a obtenu un dédoublement de la sinigrine (myronate de potasse). Ensuite, une action diastasique des extraits de glandes salivaires d'Escargot, envers les glucosides, a été signalée par A. Gorka (3), et Vigier et Pacaut (4). Enfin, nous avons signalé nous-même l'action envers l'amygdaline, des macérations du tube digestif d'Oursins (*Echinus acutus*) et des macérations d'hépto-pancréas des Astéries (*Asterias glacialis*) (5).

(1) F. CHARLIER. *Sur le dédoublement de la phloridzine au niveau du rein*. Comptes rendus de la Société de Biologie, 1901, 494.

(2) R. KOBERT, *Ueber einige Ezyme wirbelloser Thiere*. Pflüger's Archiv 99, 1903; 111-186.

(3) A. GORKA. *Über die physiologische Funktion der Speicheldrüsen von Helix pomatia L.* Zoolog. Zentralbl, XII, 1905, 305.

(4) M. PACAUT et P. VIGIER. *Les glandes salivaires de l'Escargot (Helix pomatia L.)*. Archives d'anatomie microscopique. VIII, 1906, 617.

(5) J. GIAJA. *Sur la présence de l'émulsine chez les animaux marins*. Compt. rend. Soc. Biol. LXI, 1906, 485.

Bourquelot a montré depuis longtemps qu'on ne trouvait pas d'émulsine chez les Céphalopodes. Nous n'en avons pas trouvé non plus chez plusieurs Poissons de mer.

On voit donc que l'émulsine est un ferment répandu aussi bien dans le règne animal que dans le règne végétal. Mais cette émulsine, de provenances si diverses, est-elle partout identique ; agit-elle sur les mêmes glucosides, ou au contraire, doit-on admettre l'existence de plusieurs sortes d'émulsines, se distinguant les unes des autres par quelques caractères distinctifs ? En réalité, jusqu'à présent il n'y a que l'émulsine d'amandes et celle d'*Aspergillus*, qui ont été l'objet d'études plus approfondies ; dans les autres cas on s'est contenté de signaler l'action envers un ou tout au plus envers un petit nombre de glucosides. De l'étude comparative de l'émulsine d'amandes et de l'émulsine d'*Aspergillus*, Hérissé (1) arrive à l'idée qu'on doit admettre l'existence de plusieurs espèces de ferments du genre émulsine. Les deux émulsines, que nous venons de citer, se distinguent l'une de l'autre surtout par ce fait que, celle d'amandes est inactive envers la populine et la phlorid-

(1) H. HÉRISSEY. *Recherches sur l'émulsine*. Thèse de Pharmacie. Paris 1899.

zine, tandis que celle d'*Aspergillus* dédouble ces deux glucosides. Ensuite, un autre caractère distinctif de ces deux émulsines a été trouvé par Hérisséey dans la vitesse comparative de dédoublement de divers glucosides sous leur action : Tandis que l'émulsine d'amandes ne dédouble l'arbutine qu'avec une extrême lenteur, par rapport aux autres glucosides, dans le cas de l'émulsine d'*Aspergillus*, ce glucoside est un des plus énergiquement attaqués parmi tous les autres. Enfin, l'émulsine d'amandes, comme l'a montré Em. Fischer (1), hydrolyse aussi le lactose, propriété qui fait défaut dans le liquide fermentaire de l'*Aspergillus*, d'après Hérisséey ; mais, comme nous le verrons à propos du dédoublement diastasique du lactose, on peut admettre que le dédoublement de ce sucre par l'émulsine d'amandes est dû à un agent diastasique différent de celui qui dédouble les glucosides tels que l'amygdaline.

Dans l'étude comparative de la marche de l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'amandes et par l'émulsine d'*Helix*, nous avons trouvé à ce point de vue une distinction nette entre ces deux émulsines, ainsi que nous le montrerons plus loin.

(1) Em. FISCHER. Einfluss der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme. Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, 27 (1894) 2985.

L'émulsine d'amandes a été employée par Em. Fischer dans ses essais sur le dédoublement diastasique des nombreux glucosides et hydrates de carbone de synthèse, découverts par lui. Michael avait constaté que le phénolglucoside synthétisé par lui était dédoublé par l'émulsine d'amandes. Fischer a trouvé que, parmi les nombreux glucosides synthétiques, ceux dérivant du d — glucose, et du d — galactose, sont seuls dédoublés par l'émulsine d'amandes, et encore il n'y a que la forme stéréoisomérique β de ces glucosides, qui soit attaquée par l'émulsine ; la forme α est, par contre, presque toujours dédoublée par un extrait, de levure (probablement par la maltase contenue dans cet extrait). Les glucosides synthétiques dérivant d'un autre sucre que le d — glucose et le d — galactose, ne sont attaqués sous aucune de leurs deux formes stéréoisomériques, ni par l'émulsine d'amandes, ni par l'extrait de levure ; tels sont les dérivés des sucres suivants : l-glucose, sorbose, xylose, arabinose, rhamnose et glucohéptose.

Nous réunissons dans le tableau suivant les glucosides naturels et les glucosides de synthèse, qui sont

(1) Notons que la forme α du méthyl — d — galactoside et de l'éthyl — d — galactoside n'est pas dédoublée par l'extrait de levure, tandis que la forme β est dédoublée par l'émulsine. (Fischer et Beensch. Ber d. d. chem. Gesell. 27 (1894) 2478 ; Fischer, Zeitsch. f. physiol. Chem. 26, 1898, 60).

dédoublés par l'émulsine d'amandes, en y joignant les sucres dont le dédoublement a été provoqué par cette même substance.

Glucosides naturels

Amygdaline.
Amygdonitrileglucoside.
Sambunigrine.
Prulaurasine.
Salicine, Hélicine, Hélicoïdine.
Arbutine, Méthylarbutine.
Esculine.
Coniférine.
Syringine.
Ononine.
Picéine.
Gentiopicrosine.
Hélléborine.

Glucosides de synthèse

β -méthyl δ -glucoside.
 β -méthyl δ -galactoside.
 β -éthyl δ -glucoside.
 β -éthyl δ -galactoside.
 β -phénol δ -glucoside.
 β -phénol δ -galactoside.
 β -méthyl δ -fructoside.
 β -méthyl-maltoside (dédoublé en
maltose et alcool méthylique).
Thymol-glucoside.

Sucres naturels

Lactose.
Mélitiose.
Raffinose (dédoublé en galactose
et en biose).

Sucres de synthèse

Galactosidoglucose.
Galactosidogalactose.
Glucosidogalactose.
Galactosidoglucosone.
Glucosidogalactosone.

Recherches personnelles

I. — MÉTHODE EMPLOYÉE DANS L'ÉTUDE DU DÉDOUBLEMENT DIASTASIQUE DES GLUCOSIDES

Nous avons cherché chez les Mollusques et chez les Crustacés des actions diastasiques envers des glucosides. Dans beaucoup de cas ces recherches se sont limitées à un ou deux glucosides (amygdaline, salicine), afin de pouvoir tout simplement mettre en évidence l'existence d'un ferment du genre de l'émulsine. Dans les autres cas on a étudié l'action des sucs digestifs envers plusieurs glucosides. Enfin, le suc digestif de l'*Helix* a été surtout l'objet d'une étude plus approfondie en ce qui concerne son action envers différents glucosides et notamment envers l'amygdaline.

On caractérise le dédoublement d'un glucoside par les substances qui en résultent : sucre réducteur et autres substances. Dans la majorité des cas, le sucre réducteur est le produit de dédoublement le plus commode à doser, afin de juger des proportions dans lesquelles le glucoside a été dédoublé. Pour pouvoir doser le sucre avec exactitude, il est indispensable de débarrasser le liquide

qui le contient, des substances albuminoïdes provenant des sucs digestifs ou des macérations d'organes. Dans ce but, nous avons essayé d'appliquer aux glucosides la méthode au nitrate acide de mercure, méthode employée pour la défécation des urines, du lait et du sang. Le nitrate mercurique présente surtout l'avantage de précipiter toutes les albuminoïdes, y compris les peptones ; ce dernier point est important, car les sucs digestifs et les extraits d'organes sont des liquides riches en substances albuminoïdes, qui se transforment au cours de l'expérience en grande partie en peptones.

L'emploi du nitrate acide de mercure, pour la défécation de liquides, dans le but d'y doser le sucre, a été fait pour la première fois par C. Tanret (1), en 1878, pour la recherche du sucre dans les urines. Ensuite, Wiley (2), en 1884, a appliqué ce même réactif pour les dosages du sucre dans le lait, par la méthode polarimétrique. P. Vieth (3), et A. Pappel et H. Richmond (4) s'en sont également servi pour le dosage du lactose dans

(1) C. TANRET. *Sur la recherche et le dosage du sucre dans les urines faiblement sucrées*. Bull. de Thérapeutique 1878. (D'après Méhu : Journ. pharm. et chim. 4^e série, t. 27, p. 291).

(2) H. W. WILEY. Determinations of lactose in milks by optical methods. American chemical journal 6 (1884), p. 289.

(3) P. VIETH. The Analyst XIII, 63.

(4) A. PAPPEL and H. DROOP RICHMOND. The milk of the gamoose. Journ. of the chem. soc. of London 57 (1890), 754.

le lait, en neutralisant par de la soude le liquide traité par le nitrate mercurique, de même que le faisait C. Tanret pour les urines, et se débarrassant du mercure par l'hydrogène sulfuré.

Enfin, ce procédé a été appliqué avec avantage au dosage du sucre du sang, par H. Bierry et P. Portier (1).

On prépare une solution de nitrate mercurique à 40 % de la façon suivante : Pour faire un litre de ce réactif, on pèse 400 gr. de nitrate acide de mercure, en plaques, qu'on met dans un grand verre à expériences et qu'on additionne d'environ 800 cc. d'eau distillée et tiède. On ajoute ensuite une dizaine de centimètres cubes d'acide nitrique pour faciliter la dissolution. Quand la dissolution est complète, on neutralise l'acide nitrique libre, par une solution de soude ; cette neutralisation est faite lorsqu'il se forme par addition de soude un précipité jaune persistant, d'oxyde de mercure. On filtre après avoir complété au volume d'un litre par addition d'eau distillée ; le réactif est alors bon à être employé.

Si le liquide à déféquer est très riche en substances albuminoïdes, comme le sang ou le lait par exemple, il

(1) H. BIERRY et P. PORTIER, *Sur le dosage du sucre du sang*. Compt. rendus Soc. Biol. LVIII, 1902, 1276 et LXVI 1909, 577.

est nécessaire de le diluer préalablement plusieurs fois par de l'eau distillée, car sans cela le précipité volumineux peut retenir le sucre en proportions supérieures à celles dans lesquelles il se trouve dans le liquide.

En général, lorsqu'il s'agit de liquides contenant des macérations filtrée d'organes, ou de sucs digestifs, cette dilution n'est pas nécessaire, et alors 7-8 cc. de nitrate mercurique suffisent à déféquer 100 cc. de ces liquides. On opère de la façon suivante : Les liquides qu'on veut traiter par le nitrate mercurique sont placés dans des verres à expériences. On les additionne d'une certaine quantité de nitrate mercurique tout en les agitant. Après quelques minutes de contact on verse goutte à goutte une solution de soude diluée, toujours en agitant, jusqu'à neutralisation complète au papier de tournesol. (Si la neutralisation a été dépassée on acidifie le liquide par une goutte d'acide acétique à 50 %). Cela fait, on filtre le liquide ; le filtrat est limpide et ne contient plus de substances albuminoïdes, mais il contient des petites quantités de mercure. Pour s'en débarrasser, on fait passer dans le liquide un courant d'hydrogène sulfuré ; on le débarrasse du sulfure formé, par filtration, et de l'hydrogène sulfuré, par l'ébullition.

Cette dernière opération doit être faite en milieu rendu légèrement acide par de l'acide acétique. Si le

liquide est destiné à la formation d'osazones, il n'est pas nécessaire d'employer l'hydrogène sulfuré pour se débarrasser du mercure, la phénylhydrazine acétique précipitant ce corps, dont on se débarrasse par filtration. Enfin, on peut se débarrasser du mercure en le déplaçant par le zinc ; dans ce but on ajoute aux liquides une pincée de poudre de zinc et on laisse en contact pendant quelques heures.

L'excellent côté de cette méthode, est la précipitation complète des albuminoïdes et, comme l'ont montré H. Bierry et P. Portier, l'entraînement du sucre par le précipité dans les mêmes proportions que celles, dans lesquelles il se trouve dans le liquide.

Au cours des opérations que nous venons de décrire, il faut naturellement tenir compte des variations du volume primitif du liquide. On doit donc mesurer premièrement le volume du liquide qu'on veut traiter par le nitrate mercurique, noter ensuite les quantités employées de ce réactif et de soude. Voici un exemple numérique :

On traite 80^{cc} de liqueur à déféquer, par 6^{cc} de nitrate mercurique ; 4^{cc} de soude sont nécessaires pour neutraliser. Soit en tout 90^{cc}. On filtre et on recueille 60^{cc} de filtrat. Ces 60^{cc} correspondent à $\frac{80 \times 60}{90} = 53^{\frac{2}{3}}$ du li-

quide primitif. Les 60° du liquide sont traités par l'hydrogène sulfuré ; en chassant ce dernier par la chaleur, on peut les concentrer à 53°3, de telle façon que les chiffres obtenus dans les dosages, se rapportent directement au volume du liquide primitif.

Nous avons traité comme il vient d'être dit, des solutions saturées, de différents glucosides, pour voir s'ils ne sont pas dédoublés par cette opération.

Nous avons ainsi constaté qu'aucun des glucosides suivants n'était dédoublé par le traitement au nitrate mercurique, dans les conditions où nous opérons : *amygdaline*, *salicine*, *arbutine*, *coniférine*, *phloridzine*, *convolvuline*, *esculine*, *quercitrine*, *populine* et *gentiopicrine*. Parmi ces glucosides, la phloridzine et la quercitrine sont précipitées par le nitrate mercurique.

On sait que les glucosides ne se combinent pas à la phénylhydrazine. Aussi peut-on caractériser le glucose provenant de leur dédoublement par son osazone. En portant des solutions de différents glucosides que nous venons de citer, pendant une heure et demie au bain-marie à l'ébullition, additionnées de phénylhydrazine acétique, il n'y a que la phloridzine et la quercitrine qui subissent un dédoublement par cette opération. Ce sont précisément ces deux glucosides qui sont précipités par le nitrate mercurique, de telle façon que l'épreuve à la

phénylhydrazine peut être employée aussi pour caractériser le dédoublement de ces glucosides, à la condition de les traiter préalablement par le nitrate mercurique, comme nous l'avons décrit plus haut.

Nous avons cherché à obtenir le dédoublement diastatique d'un certain nombre de glucosides par les sucs digestifs de Crustacés et par les sucs digestifs ou les extraits aqueux d'hépatopancréas de Mollusques. Dans ce but nous opérions de la façon suivante : Les sucs fraîchement recueillis, ou les macérations faites en présence d'antiseptiques (toluol, thymol, chloroforme), étaient toujours partagés en trois parties égales. La première partie était mise en contact avec une solution de glucoside ; la seconde partie, préalablement bouillie, était également mise en contact avec une solution de glucoside ; enfin, la troisième partie était mise non bouillie, en contact avec un volume d'eau distillée, égal à celui de la solution de glucoside, pour éviter toute erreur pouvant provenir des apports par le suc ou la macération, ou de leurs modifications au cours de l'expérience.

Cette dernière précaution est surtout nécessaire lorsqu'on opère avec des macérations d'hépatopancréas, qui contiennent souvent du glycogène. Dans la macération bouillie, cette substance ne fournit pas de sucre,

tandis que celle qui n'a pas été bouillie en fournit souvent, de telle sorte qu'on pourrait attribuer la production de ce sucre à un dédoublement du glucoside, si on n'avait pas le mélange de contrôle.

Tous ces mélanges étaient additionnés d'antiseptiques (toluène, chloroforme, thymol) et placés soit à la température de 37°-39°, soit à la température ordinaire du laboratoire. Après un certain temps les liquides étaient traités au nitrate mercurique et on y dosait le sucre réducteur qu'on caractérisait souvent par la plénylhydrazine.

Nous avons cherché l'emulsine chez les Mollusques et les Crustacés dont les noms suivent :

MOLLUSQUES

Gastéropodes terrestres

Helix pomatia L.
Helix aspersa MÜLL.
Helix nemoralis L.
Helix hortensis O. F. MÜLL.
Arion rufus L.
Testacella haliotidea FÉR.

Gastéropodes d'eau douce

Planorbis corneus L.
Lymnea stagnalis O. F. MÜLL.

Gastéropodes marins

Aplysia punctata CUV.
Patella vulgata L.
Trochus turbinatus BORN.
Haliotis tuberculata L.
Buccinum undatum L.
Doris tuberculata CUV.

Lamellibranches marins

Tapes decussatus L.
Pecten maximus L.
Mya arenaria L.
Venus verrucosa L.
Mytilus edulis L.

CRUSTACÉS

Macroures d'eau douce

Astacus fluviatilis ROND.
Astacus leptodactylus ESCHHOLZ.

Macroures marins

Palinurus vulgaris LATR.
Homarus vulgaris M. EDW.

Brachyures marins

Carcinus mœnas LEACH.
Maja squinado LATR.
Platycarcinus pagurus L.
Portunus puber L.

II. — RECHERCHE DE L'EMULSINE CHEZ LES MOLLUSQUES

L'émulsine existe dans le suc digestif ou les macérations d'hépto-pancréas de tous les Mollusques (terrestres, d'eau douce, marins) chez lesquels nous l'avons cherchée.

Helix pomatia L. — Le suc digestif de ce Mollusque hydrolyse les glucosides suivants : *amygdaline*, *salicine*, *arbutine*, *coniferine*, *gentiopicrine*, *hélicine*, *populine* et *phloridzine*. Par contre il est inactif envers la *quercitrine*, la *convolvuline*, la *solanine* et le *myronate de potasse*. L'émulsine d'amandes se comporte d'une façon semblable envers ces différents glucosides, avec cette exception toutefois, qu'elle est inactive envers la *populine* et la *phloridzine*. L'émulsine d'*Aspergillus* qui attaque ces deux glucosides en plus de ceux qu'attaque l'émulsine d'amandes, serait par conséquent analogue à celle d'*Helix*.

L'émulsine d'*Helix* possède une activité considérable. Le suc de ce Mollusque, mis à la dose d'un centimètre cube, avec 50° d'une solution d'*amygdaline* à 4 %, hydrolyse complètement ce glucoside en 2-3 heures à la température de 37°-39°.

Nous avons décrit la technique que nous avons employée, pour caractériser le dédoublement des glucosi-

des : Les liquides étaient déféqués au nitrate mercurique, on y dosait ensuite le sucre réducteur et on les soumettait à l'épreuve des osazones. Toutes ces expériences étaient accompagnées de témoins avec suc bouilli plus la solution de glucoside et de témoins avec suc non bouilli plus eau distillée.

On met le suc d'*Helix pomatia* en contact de solutions de différents glucosides, dans les proportions suivantes :

Suc d'Helix	0 ^{cc} 5
Solution de glucoside à 1 % —	50 ^{cc}

Après 20 heures de contact à la température de 37°-39° en présence d'antiseptiques divers (thymol, toluol) on constate que les glucosides suivants ont produit une quantité de sucre réducteur correspondant à une hydrolyse de 100 p. 100 du glucoside : amygdaline, salicine, arbutine, coniférine, gentiopierine, hélicine, populine et phloridzine. Les autres glucosides, que nous avons déjà cités, n'ont produit aucune trace de sucre réducteur. On sait que l'arbutine donne comme produits de dédoublement, du glucose et de l'hydroquinone, et que ces corps sont réducteurs tous les deux ; pour pouvoir déterminer la quantité d'arbutine hydrolysée d'après le glucose produit, il faut se débarrasser de l'hydroquinone ; on y réussit en agitant à plusieurs reprises le liquide d'hydrolyse avec de l'éther, jusqu'à ce que toute l'hydroquinone ait été enlevée.

En traitant le suc digestif d'Helix par de l'alcool à 95°, il se produit un précipité abondant. Ce précipité, recueilli sur un filtre immédiatement après sa formation et ensuite desséché dans le vide, est une poudre brunâtre qui, dissoute dans l'eau, donne les solutions ayant le même aspect que le suc d'Helix.

Ce précipité alcoolique du suc d'Helix hydrolyse les mêmes glucosides que le suc lui-même, toutefois avec moins d'intensité que ce dernier. Ainsi, en mettant en contact 0 gr. 10 de précipité, — quantité qui provient d'un volume de suc bien supérieur à 0^{cc} 5, avec le-

quel nous avons fait l'expérience précédente, — avec 50^{cc} de solutions de différents glucosides à 1 %, on obtient après 22 heures de séjour à l'étuve à 37°-39° les résultats suivants :

	p. 100 d'hydrolysé
Amygdaline.	90
Salicine	63
Arbutine.	85
Coniférine	42
Phloridzine.	76

Nous avons une remarque importante à faire en ce qui concerne l'action du suc d'*Helix* sur l'amygdaline : On sait que ce glucoside, par hydrolyse complète à l'aide des acides ou de l'emulsine d'amande, donne deux molécules de glucose et une de CNH et d'aldéhyde benzoïque. L'emulsine d'*Helix*, en agissant sur l'amygdaline, donne à la fin de la réaction ces trois corps en proportions théoriques. Mais au cours de la réaction ils apparaissent en quantités qui sont loin d'être dans ces proportions. On trouve toujours une quantité de sucre réducteur de beaucoup *inférieure* à ce qu'elle devrait être par rapport à l'acide cyanhydrique et à l'aldéhyde benzoïque, qui apparaissent, eux, en proportions théoriques. Nous avons observé le même fait avec le suc d'*Astacus*. Cette allure de l'hydrolyse de l'amygdaline par le suc d'*Helix* a été étudiée de plus près, comparativement à l'allure de l'hydrolyse de ce glucoside par l'emulsine d'amandes.

Les résultats de cette étude font l'objet du Chapitre IV de ce travail.

Avec les macérations d'hépto-pancréas d'autres espèces d'*Helix*, *H. aspersa* Müll., *H. nemoralis* L., *H. hortensis* O. F. Müll, de même qu'avec leur suc digestif, on obtient l'hydrolyse des mêmes glucosides qu'avec le suc d'*Helix pomatia*.

Ærion rufus L. — Ce mollusque ne fournit que de très petites quantités de suc, aussi nous sommes-nous servi de macérations de tube digestif d'animaux à jeun. Ces macérations mises en contact avec de l'amygdaline ou avec de la salicine, hydrolysent très vite ces deux glucosides.

Testacella haliotidea Fér. — Tandis que les Mollusques précédents sont exclusivement herbivores, la Testacelle est un Mollusque terrestre, carnivore par excellence. A cause de la faible taille de ce Mollusque il n'est guère possible de recueillir du suc digestif en quantité appréciable. Une macération aqueuse d'hépto-pancréas de Testacelle hydrolyse nettement l'amygdaline, hydrolyse mise en évidence par la caractérisation de glucose, d'aldéhyde benzoïque et d'acide cyanhydrique, comme produits de cette hydrolyse.

Planorbis corneus L. — La Planorbe et la Lymnée sont des Mollusques d'eau douce. La Planorbe ne donne

que de très petites quantités de suc digestif. Nous avons expérimenté avec une macération aqueuse de tube digestif contenant une certaine quantité de suc. Cette macération hydrolyse franchement l'amygdaline.

Lymnea stagnalis O. F. MULL. — On obtient un peu plus de suc avec la Lymnée qu'avec la Planorbe, toutefois cette quantité ne dépasse pas quelques gouttes par individu. En mettant 5-6 gouttes de ce suc en contact avec une solution d'amygdaline, on constate après 24 heures de séjour à la température de 37°-39° que le glucoside a subi une hydrolyse avec production de glucose, d'acide cyanhydrique et d'aldéhyde benzoïque.

Aplysia punctata Cuv. — Ce Mollusque est exclusivement herbivore. On le rencontre pendant l'été sur la grève de Roscoff, à marée basse, en grande quantité dans les herbiers. On trouve toujours dans le tube digestif de ce Mollusque, lorsqu'il vient d'être pêché, une plus ou moins grande quantité de suc digestif, contenant de nombreux débris d'algues (d'*Ulva lactuca* surtout). On recueille ce suc, comme l'avons déjà dit, par incision de l'estomac mis à découvert. Les Aplysies de taille moyenne fournissent ainsi 1-3^{cc} de suc par individu. Nous avons toujours trouvé que ce suc avait une réaction acide au tournesol ; il décolore une solution

de soude colorée par la phénolphtaléine. Il est aqueux et ordinairement de couleur jaunâtre.

Le suc d'Aplysie dédouble énergiquement l'amygdaline, comme le montre l'expérience suivante :

- a)* 4^{cc} suc + 40^{cc} solution amygdaline à 2 gr. 50 %
- b)* 4^{cc} suc bouilli + 40^{cc} solution amygdaline à 2 gr. 50 %
- c)* 4^{cc} suc + 40^{cc} eau distillée.

Antiseptique : toluol. Après 2 heures de contact à la température du laboratoire on constate dans *a)*, et dans *a)* seulement, la présence d'acide cyanhydrique. On dose le sucre sur une partie du liquide et on en trouve une quantité correspondant à un dédoublement de 18 % d'amygdaline. Dans *b)* et dans *c)* il n'y a pas de sucre réducteur. Après 24 heures de contact, la quantité de sucre formé dans *a)* correspond à un dédoublement de 80 % d'amygdaline.

Si on alcalinise légèrement le suc d'Aplysie par de la soude il conserve le pouvoir de dédoubler l'amygdaline. Alcalinisé ou acide, le suc d'Aplysie dédouble la salicine. Il est sans action sur le myronate de potasse.

L'extrait aqueux d'hépatopancreas d'Aplysie, précipité par l'alcool, est également actif envers l'amygdaline.

Comme on devait s'y attendre après avoir constaté le dédoublement de l'amygdaline par leur suc, les Aplysies sont intoxiquées par ingestion de ce glucoside. On prend deux Aplysies de même taille ; à l'une on injecte par la bouche, à l'aide d'une seringue, 0 gr. 10 d'amygdaline dissoute dans 10^{cc} d'eau de mer, à l'autre on injecte la même quantité d'eau de mer. On les replace dans l'aquarium. Le lendemain, la première Aplysie est morte, le contenu de son intestin dégage l'odeur d'aldéhyde benzoïque ; la seconde a survécu.

Le suc d'Aplysie débarrassé par dialyse de ses électrolytes est encore actif envers l'amygdaline. L'action

du suc dialysé est retardée par addition d'eau de mer, comme le montre l'expérience suivante :

- a) 50^{cc} eau distillée + 0 gr. 20 amygdaline + 2^{cc} suc d'Aplysie
- b) 50^{cc} eau de mer + 0 gr. 20 amygdaline + 2^{cc} suc d'Aplysie

Après 3 heures et demie de contact il y a dans

- a) 80 % d'amygdaline hydrolysée et dans
- b) 25 % seulement (calculé d'après le sucre réducteur).

Patella vulgata L. — Ce Mollusque habite les rochers, sur lesquels il est fortement fixé par toute la surface de son pied fonctionnant à cet égard comme une ventouse. Il ne se déplace que peu et se nourrit de particules végétales qu'il broute avec sa forte radula.

La Patelle ne fournit que très peu de suc digestif. Nous avons opéré avec des macérations d'hépatopancréas dans de l'eau chloroformée. Ces macérations dédoublent l'amygdaline et la salicine. On caractérise l'acide cyanhydrique provenant de l'amygdaline, après distillation, par la réaction du bleu de Prusse. Ensuite on traite les liquides par le nitrate mercurique et on constate la présence de glucose par la liqueur cupropotassique et par la production de glucosazone.

Trochus turbinatus BORN. — L'amygdaline est manifestement hydrolysée par une macération d'hépatopancréas de ce Mollusque herbivore, avec production de

glucose, d'acide cyanhydrique et d'aldéhyde benzoïque. Cette hydrolyse est déjà assez avancée après quelques heures de contact à la température du laboratoire.

Haliotis tuberculata L. — On fait une macération d'hépto-pancréas d'Haliotis, dans de l'eau chloroformée. Cette macération filtrée sur papier donne 30^{cc} de liquide, et on fait l'expérience suivante :

- a) 6^{cc} macération + 40^{cc} amygdaline à 1 %
- b) 6^{cc} macération + 40^{cc} salicine à 1 %
- c) 6^{cc} macération bouillie + 40^{cc} amygdaline à 1 %
- d) 6^{cc} macération bouillie + 40^{cc} salicine à 1 %
- e) 6^{cc} macération + 40^{cc} eau distillée

Antiseptique toluol. Après 24 heures de contact à la température du laboratoire on traite les flacons par le nitrate mercurique. On trouve dans a) une quantité de sucre réducteur correspondant à 24 % d'amygdaline hydrolysée et dans b) une quantité correspondant à 20 % de salicine. Les contenus des autres flacons ne contiennent pas de sucre réducteur.

Doris tuberculata Cuv. — C'est un Mollusque carnivore se nourrissant généralement d'éponges fixées sur les rochers qu'il habite. L'amygdaline est dédoublée par une macération chloroformée de son hépto-pancréas.

Buccinum undatum L. — Le Buccin est également un Mollusque carnivore par excellence. Une macération d'hépto-pancréas, mise en contact avec 40^{cc} d'une solution d'amygdaline à 2 %, pendant 24 heures environ, à

la température du laboratoire, a provoqué un dédoublement d'environ 30 % de ce glucoside,

Tapes decussatus L. — Une macération chloroformée de quatre hépto-pancréas de ce Mollusque, filtrée, donne 15^{cc} de liquide. On fait avec ce liquide les trois mélanges suivants :

- a) 5^{cc} macération + 40^{cc} amygdaline à 2 gr. 50 %
- b) 5^{cc} macération bouillie + 40^{cc} amygdaline à 2 gr. 50 %.
- c) 5^{cc} macération + 40^{cc} eau distillée.

Antiseptique toluol. Après 24 heures de contact à la température du laboratoire on chasse le chloroforme par la chaleur et on constate qu'il y a dans a) une quantité de sucre réducteur correspondant à 27 % d'amygdaline hydrolysée. Les liquides b) et c) ne contiennent pas de sucre réducteur.

Pecten maximus L. — L'amygdaline est dédoublée par une macération d'hépto-pancréas de Pecten. Par contre une macération de glandes génitales ne dédouble pas ce glucoside,

Mya arenaria L. — Ce Mollusque habite les fonds vaseux dans lesquels il s'enfonce. Ses longs siphons, qui viennent émerger à la surface du sol, sont le siège de deux courants liquides de sens opposés, lui fournissant ainsi l'aliment gazeux et l'aliment solide. Ce dernier est représenté par les nombreuses particules organiques et les êtres microscopiques en suspension dans l'eau.

Une macération chloroformée de deux hépto-pancréas,

mise en contact de 0 gr. 20 d'amygdaline, a provoqué au bout de 2 heures un dédoublement avancé de ce glucoside. On constate la présence de l'acide cyanhydrique et du sucre réducteur.

Venus verucosa L. — On fait une macération chloroformée de 10 hépato-pancréas, on la filtre sur du coton de verre et on recueille ainsi 20^{cc} de liquide. Ce liquide est employé comme il suit :

- a) 5^{cc} macération + 40^{cc} solution amygdaline à..... 2 gr. 50 %.
- b) 5^{cc} macération + 40^{cc} solution salicine à..... 2 — 50 %.
- c) 5^{cc} macération *bouillie* 40^{cc} solution amygdaline à.. 2 — 50 %.
- d) 5^{cc} macération *bouillie* 40^{cc} solution salicine à..... 2 — 50 %.
- e) 5^{cc} macération + 40^{cc} eau distillée.

Antiseptique thymol. Après 15 heures de contact à la température de 35-40° on traite les cinq mélanges par le nitrate mercurique. a) contient une quantité de sucre correspondant à un dédoublement d'environ 40 % d'amygdaline et b) en contient une quantité correspondant à 36 % de salicine dédoublée. c) et d) ne contiennent pas de sucre réducteur mais e) en contient des traces, à en juger d'après une très faible réduction de la liqueur de Fehling.

Mytilus edulis L. — Une macération aqueuse d'hépatopancréas de ce Mollusque, hydrolyse l'amygdaline et la salicine.

III. — RECHERCHE DE L'ÉMULSINE CHEZ LES CRUSTACÉS

Nous avons cherché l'émulsine dans le suc digestif de différents Crustacés. Ce suc était recueilli, en sondant les animaux vivants, par le procédé que nous avons indiqué. Nous verrons par ce qui suit que les propriétés diastasiques du suc d'un même Crustacé, ne sont pas constantes. Plusieurs cas nous ont fourni des exemples de la présence d'un ferment dans un suc digestif, à un moment donné et de l'absence de ce ferment dans le suc du même individu, à un autre moment. Il semble donc que la sécrétion des ferments chez les crustacés soit dépendante de certaines conditions dans lesquelles se trouve l'animal. On devra, dans le cas de résultats négatifs, multiplier autant que possible le nombre d'expériences, en opérant avec du suc provenant de divers individus, avant de conclure sur l'absence d'un ferment dans ce suc. C'est surtout sur des animaux se trouvant en pleine digestion qu'on devra prélever le suc digestif, autant que les circonstances le permettront.

Astacus fluviatilis ROND. et **A. leptodactylis** ESCHHOLZ.
Nous avons expérimenté tantôt avec le suc d'une espèce d'Écrevisse, tantôt avec le suc de l'autre espèce ; les résultats ont été les mêmes. Le suc digestif d'*Astacus* a

le même aspect que celui d'*Helix*, c'est un beau liquide fortement coloré en rouge-brun. Nous l'avons toujours trouvé acide au tournesol, de même que l'avaient déjà constaté Schlemm, Lindner, Hoppe-Seyler et Krukenberg (1), tandis que Stamati (2) a trouvé que le suc recueilli par fistule permanente était nettement alcalin dans la plupart des cas et jamais acide.

Le suc d'*Astacus* se comporte envers les glucosides, comme le suc d'*Helix* (3). Les mêmes glucosides sont attaqués par le suc de ces deux animaux. Nous avons constaté un dédoublement diastasique des glucosides suivants, sous l'action du suc d'*Astacus* : amygdaline, salicine, arbutine, coniférine, gentiopicrine, hélicine, populine et phloridzine. Le même suc s'est montré inactif envers la quercitrine, la convolvuline, la solanine et le myronate de potasse.

La marche de l'hydrolyse de l'amygdaline se fait de la même façon que dans le cas du suc d'*Helix*, pour lequel nous avons fait remarquer qu'on trouvait au cours de l'hydrolyse de l'amygdaline, une quantité inférieure

(1) Cité d'après : OTTO VON FÜRTH. *Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere*, Iena, 1903, p. 225.

(2) STAMATI. *Recherches sur le suc gastrique de l'Ecrevisse*. *Compt. rend. Soc. Biol.* 1888, 16.

(3) J. GIAJA et M. GOMPEL. *Sur la digestion des glucosides et des hydrates de carbone chez l'Ecrevisse*. *Compt. rend. Soc. Biol.* 62, 1907, 1197.

de sucre réducteur, à ce qu'on devrait trouver théoriquement par rapport à l'acide cyanhydrique et à l'aldéhyde benzoïque. L'allure de l'hydrolyse de l'amygdaline par le suc d'Astacus est la même que pour le suc d'Helix. Toutefois, l'écart entre la quantité théorique et la quantité trouvée, de sucre réducteur, est moins importante pour l'action du suc d'Astacus que pour celle du suc d'Helix.

Voici une expérience sur l'hydrolyse de l'amygdaline par le suc d'Astacus :

On fait le mélange suivant :

Suc d' <i>Astacus fluviatilis</i>	4 ^{cc}
Amygdaline.....	2 gr. 50
Eau quant. suf. pour.....	100 ^{cc}

On place ce mélange au thermostat à 38° et on fait des dosages simultanés, de sucre réducteur et de CNH, après 1 heure, 24 heures et 3 jours. On obtient les chiffres suivants :

	C N H —	Sucre réducteur (en glucose) —	Glucose correspon- dant théoriquement à C N H —	Pour cent d'amyg- daline hydrolysée d'après C N H —
1 heure. .	0 gr. 032	0 gr. 385	0 gr. 426	23
24 heures	0 — 062	0 — 735	0 — 826	45
3 jours . .	0 — 132	1 — 746	1 — 750	97

On voit donc qu'il n'y a pas au cours de la réaction proportionnalité théorique entre C N H et le sucre réducteur, et que ce dernier se trouve en quantité inférieure à la quantité théorique.

Carcinus mœnas LEACH. — Le suc digestif de ce Crustacé s'est toujours montré alcalin au tournesol; il est de couleur jaune brunâtre. On le recueille en sondant l'animal par la bouche avec une pipette en verre, bien effilée; à cause de la faible taille de cet animal, il faut opérer avec beaucoup de précautions, car les parois de l'estomac étant très fragiles on les perfore facilement et dans ce cas le suc digestif est mélangé de sang.

L'émulsine de ce Crustacé a été mise en évidence par son action envers plusieurs glucosides :

On sonde sur la grève même, une quarantaine de *Carcinus*, au fur et à mesure qu'on les capture et on les remet en liberté après l'opération. On recueille ainsi 14^{cc} de suc digestif, qu'on met à raison de 2^{cc} en contact de ogr. 2 des glucosides suivants dissous dans 15^{cc} d'eau distillée : *amygdaline*, *salicine*, *arbutine*; d'autre part on fait les mêmes mélanges, mais avec du suc bouilli, et enfin 2^{cc} de suc non bouilli sont additionnés de 15^{cc} d'eau distillée. Comme antiseptique on ajoute à chacun des mélanges quelques gouttes de toluol. Après 15 heures de contact à la température ordinaire, on constate, après défécation des liqueurs par le nitrate mercurique, que les trois glucosides ont été dédoublés : 60 % pour l'*amygdaline* et 45 % pour la *salicine*; avant la défécation des liqueurs on constate la présence d'acide cyanhydrique provenant du dédoublement de l'*amygdaline*. L'*arbutine* avait également subi un dédoublement à en juger par la présence de sucre réducteur et d'hydroquinone. Les liquides témoins n'accusent la présence d'aucune trace de sucre réducteur. En dehors de ces trois glucosides, nous avons constaté que la gentiopicine est également dédoublée par le suc de *Carcinus* tandis que la phloridzine n'est pas attaquée par ce même suc. Voici une expérience parmi plusieurs qui ont été faites pour bien vérifier ce fait de l'inactivité envers la phloridzine.

Avec du suc frais recueilli comme précédemment on fait l'expérience : 50^{cc} d'une solution à 1 % des glucosides suivants, amygdaline, phloridzine et gentiopicroine, sont additionnés de 3^{cc} de suc de *Carcinus*, pour chaque glucoside. Témoins avec suc bouilli plus solution de glucoside et suc non bouilli plus eau distillée. Après 24 heures de contact à la température de 30° on constate un dédoublement très avancé de l'amygdaline et de la gentiopicroine. Par contre, la phloridzine n'a subi aucun dédoublement, comme le témoigne l'absence complète de sucre réducteur. Après 3 jours de contact la phloridzine n'a toujours pas subi le moindre dédoublement. A ce moment, pour faire une sorte de contre épreuve, on ajoute au flacon contenant phloridzine plus suc de *Carcinus*, quelques gouttes seulement de suc d'*Helix aspersa*. Après 4 heures de contact on constate qu'il y a 28 % de phloridzine hydrolysée.

De ce qui précède, on peut conclure que le suc digestif de *Carcinus mœnas* contient une émulsine. Cette émulsine est inactive envers la phloridzine tandis qu'elle est active envers l'amygdaline, la salicine, l'arbutine et la gentiopicroine. On sait que l'émulsine d'amandes est, de même, sans action envers la phloridzine, tandis que celle d'*Aspergillus* est active envers ce glucoside. L'émulsine de *Carcinus* se rapprocherait à ce point de vue de la première. Mais, tandis que l'émulsine d'amandes agit sur le lactose, celle de *Carcinus* n'agit pas sur ce biose. Nous verrons par ce qui suit que, dans les suc digestifs des divers Crustacés, on rencontre ces trois actions diastatiques, envers la phloridzine, envers le lactose et envers l'amygdaline, soit toutes les trois à la fois, soit

isolées l'une de l'autre, ce qui semble montrer qu'elles sont dues à des agents diastasiques distincts.

Maja squinado LATR. — Ce Crustacé est de forte taille, aussi fournit-il le suc digestif en quantités considérables. Lorsque les animaux sont dans de bonnes conditions physiologiques, on obtient facilement par individu 5-6^{cc} d'un beau suc jaunâtre. Nous l'avons trouvé presque toujours acide au tournesol, et très rarement neutre. Les Maja s'habituent vite à la vie d'aquarium et ne tardent pas à s'alimenter. Lorsque les animaux ne sont apportés au laboratoire qu'un certain temps après avoir été pêchés, ils sont fatigués et on ne trouve que peu de suc dans leur estomac ; de plus, les propriétés diastasiques de ce suc sont fortement atténuées sinon complètement absentes. Au cours de nos expériences avec les Crustacés, nous avons observé de nombreux faits qui semblent prouver que, de même que chez les animaux supérieurs, les propriétés diastasiques des sécrétions digestives des Crustacés, varient avec certaines conditions physiologiques dans lesquelles se trouve l'animal, tandis que chez les Mollusques, on n'observe pas cette variabilité des propriétés diastasiques d'un même suc. Le suc digestif de Maja possède une émulsine, comme le prouve l'expérience suivante sur son action envers les glucosides.

On met en contact du suc de *Maja*, à raison de 2^{cc}, avec 15^{cc} d'une solution de glucosides à 1 gr. 50 %. Après 24 heures de contact à la température de 37-39° on constate qu'il y a 70 % d'amygdaline dédoublée, et 27 % de salicine. On voit que l'amygdaline est dédoublée plus vite que la salicine; par exemple, après 4 heures seulement de contact, tandis que l'amygdaline avait déjà subi un dédoublement manifeste, il n'y avait pas de sucre réducteur formé aux dépens de la salicine. L'arbutine et la gentiopicrine ont également subi une hydrolyse avancée, mais la phloridzine n'a pas produit la moindre quantité de sucre réducteur, même au bout de 3 jours de contact. Alors on additionne la phloridzine de 0^{cc}5 de suc d'*Helix*, et au bout de 3 h. 30 de contact on constate qu'il y en a 50 % environ de dédoublée.

En résumé, de même que *Carcinus*, *Maja* possède une émulsine qui est active envers certains glucosides et inactive envers la phloridzine; mais, tandis que le suc du premier Crustacé n'attaque pas le lactose, celui de *Maja* hydrolyse ce biose, ainsi que nous le verrons plus loin à propos de la lactase.

***Platycarcinus pagurus* L.** — Ce Crustacé fournit du suc en quantités variables, de 5 à 10^{cc} par individu. Ce suc est neutre ou faiblement acide au tournesol. Ses propriétés diastasiques envers les glucosides sont variables suivant les individus; son activité est en général faible et quelquefois nulle. Cela doit tenir à ce que les animaux que nous sondions étaient en réalité dans des conditions physiologiques défavorables. Il est en effet impossible de recueillir du suc sur des animaux à

l'instant même où on les capture comme nous le faisons pour les *Carcinus*, pour cette raison que les *Platycarcinus* sont pêchés par des pêcheurs, au filet ou à l'aide des casiers à Langoustes ; les animaux arrivent toujours plus ou moins fatigués au laboratoire. D'autre part, ils semblent ne s'habituer à l'aquarium qu'assez mal, car bien qu'ils puissent y vivre assez longtemps ils ne prennent que peu ou pas de nourriture. A cause des résultats variables qu'on obtient avec cet animal, nous avons fait un nombre considérable d'expériences avec du suc provenant d'un grand nombre de *Platycarcinus*. Nous n'en relatons ici que quelques-unes résumant les résultats que nous avons obtenus.

On sonde cinq *Platycarcinus*, apportés au laboratoire par des pêcheurs. Les animaux sont fatigués et on recueille en tout 30^{cc} de mélange de suc. Il est de réaction neutre au tournesol, et complètement *inactif* envers l'amygdaline, la salicine, le saccharose et la phloridzine, même après un contact de deux jours.

Une autre fois, quatre *Platycarcinus* de faible taille, pêchés le même jour, fournissent 5^{cc} de suc neutre ou peut-être même faiblement alcalin. On le met en contact de 0 gr. 50 d'*amygdaline* et de 0 gr. 50 de *salicine* à raison de 2^{cc} 5 ; après quatre jours de contact on défèque les liquides par le nitrate mercurique et on constate qu'il s'est formé aux dépens de l'amygdaline une quantité de sucre réducteur correspondant à un dédoublement de 45 % de ce glucoside, tandis qu'il ne s'est pas formé une quantité décelable de sucre aux dépens de la salicine. Nous avons obtenu une seule fois seulement un faible dédoublement de la salicine avec le suc de *Platycarcinus*. Toutes les autres

fois il était inactif envers la salicine, de même qu'envers la phloridzine, tandis qu'il était dans la majorité des cas actif envers l'amygdaline et l'arbutine.

Nous avons montré à propos du suc de Maja, que le suc de ce Crustacé agissait beaucoup plus énergiquement envers l'amygdaline qu'envers la salicine; dans le cas de Platycarcinus cet écart entre les deux actions semble être encore plus considérable. Nous avons même eu des cas où l'action envers la salicine était absolument nulle au bout de plusieurs jours, tandis que l'amygdaline avait subi un dédoublement assez avancé au bout de 24 heures. Nous verrons plus loin que les choses se passent d'une manière semblable chez la Langouste dont le suc digestif s'est montré toujours inactif envers la salicine, tandis qu'il dédoublait l'amygdaline. Aussi, est-on en droit de se demander si le ferment contenu dans ces sucs et attaquant l'amygdaline est identique à celui attaquant la salicine.

Enfin, le suc de Platycarcinus s'est toujours montré *inactif* envers la phloridzine.

Portunus puber L. — De même que le suc digestif de Carcinus, celui de Portunus est de réaction légèrement alcaline au tournesol. Ces deux Crustacés étant à peu près de même taille, fournissent le suc en même quantité (environ $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ de cc par individu). Ce suc est actif

envers l'amygdaline et la salicine, et inactif envers la phloridzine ; mais, tandis qu'on observe un dédoublement manifeste de l'amygdaline déjà après quelques heures de contact de 2^{cc} de suc avec ce glucoside, la salicine ne produit une quantité décelable de sucre qu'après 24 heures et même 36 heures.

Palinurus vulgaris Latr. — Nous avons eu un nombre considérable de Langoustes et de Homards à notre disposition (jusqu'à 40 individus à la fois). Aussi avons-nous pu recueillir du suc en quantités considérables. Ces animaux provenaient pour la plupart du vivier de Roscoff où ils sont conservés longtemps pour être livrés à l'alimentation. Les animaux y vivent très bien, se nourrissent, et il est par conséquent naturel d'admettre qu'ils se trouvent là dans de parfaites conditions pour fournir du suc digestif normal, c'est-à-dire tel qu'il est secrété chez l'animal vivant dans son milieu naturel. Le fait que nous avons déjà mentionné sur la variabilité des propriétés diastasiques des liquides digestifs de quelques Crustacés, se retrouve également pour le suc de la Langouste. Ainsi, une Langouste qui vient d'être capturée fournit 2^{cc} de suc légèrement acide au tournesol, et actif sur l'amygdaline. Cette Langouste est placée dans l'aquarium du laboratoire, qui a une profondeur de

50 centimètres environ. Le lendemain, on recueille de nouveau 2^{cc} de suc qui agit encore sur l'amygdaline.

L'animal ne semble pas prendre de nourriture. Après 13 jours on sonde de nouveau cette Langouste. Elle est bien portante et vigoureuse. On recueille 3^{cc} de suc, mais celui-ci est inactif envers l'amygdaline et la salicine, même après 5 jours de contact avec ces deux glucosides.

Ensuite nous retrouvons de même chez la Langouste cette inactivité du suc envers la salicine, tandis que ce même suc est plus ou moins actif envers l'amygdaline. Mais, tandis que chez les autres Crustacés nous avons constaté tout au moins une fois le dédoublement de la salicine, nous ne l'avons pas constaté une seule fois avec le suc de Langouste, et cependant nous avons souvent expérimenté avec un mélange de suc provenant de nombreux individus. Nous nous sommes demandé s'il n'y avait pas dans ce suc un ferment glycolytique qui ferait disparaître le suc provenant du dédoublement de la salicine. Pour nous mettre à l'abri d'une telle cause d'erreur, nous avons fait des solutions de salicine dans du fluorure de sodium à 2 %. Voici une telle expérience :

- 1) 1^{cc} suc + 15^{cc} eau + 0 gr. 2 amygdaline
- 2) 1^{cc} 5 suc + 15^{cc} eau + 0 gr. 2 salicine
- 3) 1^{cc} 5 suc + 15^{cc} Na Fl à 2 % + 0 gr. 2 salicine
- 4) 1^{cc} 5 suc + 15^{cc} eau + 0 gr. 2 amygdaline

Après 4 heures de contact à la température ordinaire, l'amygdaline a produit déjà une quantité considérable de sucre réducteur tandis qu'il n'y en a pas trace dans les autres flacons. De même après 3 jours, ni la salicine, ni la phloridzine, n'ont produit de sucre réducteur, tandis que l'amygdaline est hydrolysée dans les proportions d'environ 78 %. Mais en ajoutant à la salicine (flacons 2 et 3) et à la phloridzine, quelques gouttes seulement de suc d'*Helix aspersa*, on constate la présence de sucre réducteur dans les trois flacons après quelques heures de contact. Cette contre-épreuve montre que le fluorure de sodium n'entrave pas l'action de l'émulsine.

Homarus vulgaris M. Edw. — Le suc de ce Crustacé est toujours franchement acide au tournesol. Ses propriétés diastasiques ne sont pas inconstantes comme celles du suc de *Palinurus*. De plus, son activité envers les glucosides est très marquée. Toutes les fois que l'amygdaline est dédoublée, la salicine l'est également. Ensuite, le suc de Homard a cette remarquable propriété d'hydrolyser la phloridzine. Comme nous l'avons vu, les sucs de tous les autres Crustacés, examinés à ce point de vue, se sont montrés inactifs envers ce glucoside, à l'exception du suc d'Ecrevisse, qui a également cette propriété d'attaquer la phloridzine. L'expérience suivante montre que l'activité de ce suc envers les glucosides est considérable.

Trois individus, sondés par la bouche, donnent 12^{cc} de suc de couleur rouge brunâtre et de réaction très acide. On fait avec ce suc la série suivante : on le met à raison de 2^{cc} en contact de 75^{cc} de solution à 1 gr. 50 pour 100 des glucosides suivants : amygdaline, salici-

ne, coniferine, arbutine, phloridzine, quercitrine, gentiopictine. Après 24 heures de contact on constate que tous les glucosides, à l'exception de la quercitrine (qui n'est pas dédoublée même après 7 jours de contact) ont subi un dédoublement assez avancé (40 % pour l'amygdaline, 35 % pour la phloridzine, 23 % pour la salicine).

En résumé, il y a un fait qui se dégage nettement de ce que nous venons d'exposer dans ce Chapitre, c'est que l'émulsine est très répandue chez les Mollusques et chez les Crustacés. Nous avons recherché ce ferment chez des Mollusques appartenant à 16 genres et chez des Crustacés appartenant à 7 genres différents ; chez tous nous avons réussi à le mettre en évidence. L'habitat et l'alimentation de ces divers animaux sont des plus variables. Les uns sont terrestres, les autres marins ou d'eau douce, carnivores ou herbivores.

Nous devons faire une remarque à propos de l'émulsine des Crustacés, remarque qui s'applique également à quelques autres ferments de ces animaux ; la présence de l'émulsine dans le suc de plusieurs Crustacés est inconstante ; la sécrétion des ferments chez les Crustacés semble être en rapport avec certaines conditions physiologiques dans lesquelles se trouve l'animal. Par contre, chez les Mollusques, — tout au moins chez l'Aplysie et chez l'Helix, — nous avons toujours trouvé

les mêmes ferments dans leurs sucs, qu'ils soient à jeun ou en pleine digestion, ou encore en hibernation (*Helix*).

Ayant en vue cette variabilité des propriétés diastatiques des sucs digestifs des Crustacés, il est évident que les résultats négatifs obtenus avec eux, ne permettent pas de conclure à l'absence absolue de certains ferments. Mais ce qui a une autre valeur, c'est la constatation *simultanée* des activités et des non-activités diastatiques d'un suc. Ainsi, nous avons constaté que les sucs de quelques Crustacés étaient actifs envers l'amygdaline sans l'être envers la phloridzine, ou bien qu'ils étaient actifs envers le lactose sans l'être envers la phloridzine; enfin, d'autres sucs se sont montrés actifs à la fois sur les trois corps, amygdaline, phloridzine et lactose. Ces faits montrent que ces trois actions diastasiques sont en quelques sortes indépendantes l'une de l'autre, ce qui est un signe favorable pour les attribuer à des ferments distincts.

IV. — ACTION DU SUC D'*HELI*X *POMATIA* SUR LES
GLUCOSIDES SYNTHÉTIQUES: α -MÉTHYL- δ -GLU-
COSIDE ET β -MÉTHYL- δ -GLUCOSIDE

Nous avons préparé avec M. Bierry ces deux glucosides, en suivant les indications de Em. Fischer. Au lieu de préparer les glucosides d'alcools à l'aide d'acide chlorhydrique concentré, Fischer a montré qu'il était préférable de n'employer que des solutions très étendues d'acide chlorhydrique et d'aider la réaction à s'accomplir, par un chauffage prolongé.

Pour préparer les α et β méthyl- δ -glucosides, on opère de la façon suivante :

On fait bouillir pendant une heure, au réfrigérant ascendant, une partie de glucose anhydre, en poudre, avec 4 parties d'alcool méthylique exempt d'acétone, desséché sur la chaux vive, et contenant 0,25 p. 100 d'acide chlorhydrique gazeux. Lorsque le glucose était complètement dissous, on a chauffé le liquide en tube scellé, à l'autoclave, pendant 50 heures ; ensuite on l'a concentré au bain-marie au tiers de son volume. Le liquide ainsi concentré, a déjà commencé à cristalliser après 24 heures ; au bout de huit jours, on recueille les

cristaux sur un filtre Buchner et on les purifie par deux recristallisations dans l'alcool méthylique.

On obtient ainsi une substance qui ne réduit pas la liqueur de Fehling et qui a comme pouvoir rotatoire $[\alpha]_D = + 157^\circ$. C'est l' α -méthyl- δ -glucoside. Le liquide au sein duquel a cristallisé ce glucoside, contient le β méthyl- δ -glucoside, à côté d'autres quantités de α -méthyl- δ -glucoside.

Pour obtenir le glucoside β on a concentré ce liquide au bain-marie jusqu'à consistance sirupeuse et puis on l'a additionné d'éther jusqu'à ce qu'il se produise un trouble. Après une quinzaine de jours le sirop a cristallisé ; les cristaux ont été essorés à la trompe sur un filtre, mais comme ils sont formés par un mélange des glucosides α et β , on se débarrasse du premier par plusieurs cristallisations successives dans l'alcool absolu, puis dans l'alcool à 95° . On obtient ainsi un corps ne réduisant pas la liqueur de Fehling et dont le pouvoir rotatoire lévogyre est de $[\alpha]_D = - 30^\circ$. C'est le β -méthyl- δ -glucoside.

On sait que de ces deux glucosides, celui qui appartient à la série α est attaqué par l'extrait de levure, cette action étant probablement due à la maltase contenue dans cet extrait, tandis que le glucoside β est attaqué par l'émulsine d'amandes.

Le suc digestif d'*Helix* qui contient de la maltase et de l'émulsine, est actif envers les deux glucosides, ainsi qu'il était à prévoir. Ce suc hydrolyse le α et le β méthyl- δ -glucoside aussi facilement qu'il hydrolyse le maltose et l'amygdaline.

CHAPITRE III

Sur les ferments dédoublant la phloridzine et la populine

Nous réunissons dans un chapitre à part les résultats que nous avons obtenus sur le dédoublement diastasi-que de deux glucosides : la phloridzine et la populine. Nous faisons cela pour les raisons suivantes : Dans nos expériences, nous avons constaté que le suc digestif de certains Crustacés, était à la fois actif envers l'amygdaline et envers la phloridzine, tandis que le suc d'autres Crustacés n'agissait pas sur ce dernier glucoside, mais contenait cependant de l'émulsine, puisqu'il attaquait l'amygdaline, la salicine, etc. En rapprochant ces faits de ceux déjà connus sur l'hydrolyse diastasique de la phloridzine, nous avons été amené à attribuer cette hydrolyse à un ferment distinct de l'émulsine. Nous avons réussi à séparer complètement, par la chaleur,

dans le suc d'Helix, l'action sur la phloridzine de l'action envers d'autres glucosides (amygdaline, arbutine, salicine), et par la méthode des vitesses de réaction ces deux actions diastasiques se montrent indépendantes l'une de l'autre. En somme, nous avons tous les éléments sur lesquels reposent les spécificités diastasiques les mieux établies.

Hérissey (1) a trouvé que le liquide fermentaire d'*Aspergillus* est actif envers les mêmes glucosides naturels que l'émulsine végétale, et qu'il hydrolyse en plus deux glucosides, la phloridzine et la populine, glucosides, que l'émulsine d'amandes n'attaque pas. En attribuant l'hydrolyse de ces deux glucosides à l'émulsine du liquide fermentaire d'*Aspergillus*, on doit admettre que cette émulsine est distincte de l'émulsine d'amandes. Il y aurait donc deux espèces d'émulsines. On a retrouvé dans d'autres liquides fermentaires des émulsines se rapprochant soit de l'une soit de l'autre de ces deux espèces. Ainsi, F. Charlier (2) a constaté qu'une macération aqueuse de rein de cheval hydrolyse en peu de temps des quantités considérables de phloridzine tandis que les reins de lapin, de cobaye, de bœuf

(1) HÉRISSEY *loc. cit.*

(2) F. CHARLIER, *Sur le dédoublement de la phloridzine au niveau du rein*. Comp.-rend. Soc. Biol. LIII, 1901, 494.

et de mouton n'agissent pas sur ce glucoside ; cependant, le rein de lapin contient une émulsine, à en juger d'après son action envers la salicine (Gérard). Kobert a obtenu une hydrolyse de la phloridzine par des extraits de divers insectes. D'après Gorka, les macérations de glandes salivaires d'*Helix pomatia* n'hydrolysent pas la phloridzine, tout en hydrolysant plusieurs autres glucosides ; nous avons obtenu des résultats différents avec le suc digestif de ce Mollusque, qui s'est toujours montré actif sur la phloridzine.

Le suc digestif d'*Helix pomatia*, comme nous l'avons vu, contient une émulsine. Il agit aussi sur la phloridzine et la populine.

En mettant $\frac{1}{4}$ de centimètre cube seulement, de suc d'*Helix*, en contact de 50^{cc} d'une solution à 2 gr. 50 % de chacun des trois glucosides : amygdaline, phloridzine, et populine, on constate après une heure de séjour à la température de 37°-39° une hydrolyse des trois glucosides. L'amygdaline a produit 0 gr. 367 de sucre réducteur et 0 gr. 055 de CNH ; la phloridzine a produit 0 gr. 105 de glucose, et la populine 0 gr. 102. Après 24 heures, l'hydrolyse des trois glucosides était complète. On obtient des résultats semblables avec le suc d'*Helix aspersa*.

Le suc de l'Ecrevisse (*Astacus fluviatilis* et *A. lept-*

dactylis), de même que le suc d'*Helix*, agit sur de nombreux glucosides, y compris la phloridzine et la populine. La phloridzine est aussi hydrolysée par le suc du Homard (*Homarus vulgaris*) tandis que le suc digestif d'autres Crustacés : *Portunus puber*, *Maja squinado*, et *Carcinus moenas* s'est toujours montré inactif envers la phloridzine. Le suc de ces trois derniers Crustacés est actif envers l'amygdaline, et c'est en expérimentant avec le même suc, dans les mêmes conditions, comparativement avec l'amygdaline et la phloridzine, que nous avons constaté son activité envers le premier et son inactivité envers le second glucoside.

Voici une de ces expériences, avec le suc de *Carcinus moenas* :

On met du suc de *Carcinus*, à la dose de 3^{cc}, en contact avec 50^{cc} de solutions d'amygdaline et de phloridzine à 0,50 p. 100. Les flacons contenant ces mélanges sont placés à l'étuve à la température de 37°-39°. Après 18 heures, l'amygdaline est entièrement hydrolysée, tandis que la phloridzine par contre n'a pas produit de sucre réducteur en quantité décelable par la liqueur de Fehling. Il en est de même après trois jours. On partage alors le liquide contenant la phloridzine en deux parties égales et on en additionne une seule de quelques gouttes de suc digestif d'*Helix aspersa*. Quatre heures plus tard, la phloridzine additionnée de suc d'*Helix* avait produit une quantité considérable de sucre réducteur : après 24 heures l'hydrolyse était complète, tandis que la phloridzine restée en contact de suc de *Carcinus* seul, n'a toujours pas subi d'hydrolyse.

L'expérience a été répétée trois fois avec du suc provenant d'une centaine de *Carcinus* ; les résultats ont été toujours les mêmes, que l'expérience ait été faite à la température de 37°-39° ou à la température ordinaire du laboratoire.

Avec le suc digestif de *Maja* et le suc de *Portunus*, les résultats ont été les mêmes qu'avec le suc de *Carcinus* : Ils sont sans action sur la phloridzine, mais agissent sur l'amygdaline.

Le suc digestif de *Homarus vulgaris* et celui d'*Astacus fluviatilis*, — au contraire de ce que nous avons trouvé pour le suc des autres Crustacés, — hydrolysent la phloridzine avec la même facilité qu'ils hydrolysent l'amygdaline.

D'après ces faits, on pourrait admettre l'existence de deux sortes d'émulsines chez les Crustacés. L'une attaquant la phloridzine (émulsine d'*Astacus* et de *Homarus*), l'autre n'attaquant pas ce glucoside tout en étant active, de même que la première, sur d'autres glucosides (amygdaline, salicine, arbutine). Ces deux espèces d'émulsines seraient respectivement analogues à l'émulsine d'*Aspergillus* et à l'émulsine d'amandes.

Nous avons essayé de séparer par la chaleur, l'action du suc d'*Helix pomatia* envers la phloridzine de son action envers l'amygdaline, la salicine et l'arbutine.

Dans ce but on opérait de la façon suivante : Le bain-marie étant réglé à la température voulue, on y place des tubes contenant du suc d'Helix, préalablement dilué deux fois par addition d'eau distillée ; on les laisse ainsi pendant vingt minutes, en comptant à partir du moment où le suc a pris la température du bain.

Le suc d'Helix chauffé comme il vient d'être dit, pendant vingt minutes à 68°, n'exerce plus qu'une action très lente sur la phloridzine, action qui n'est évidente qu'après quarante-huit heures, tandis que ce même suc chauffé possède une activité considérable sur l'amygdaline, l'arbutine, la salicine et la populine.

Après un chauffage de vingt minutes à la température de 70°, le suc d'Helix a complètement perdu la propriété d'hydrolyser la phloridzine, même après plusieurs jours de contact avec ce glucoside, mais il est par contre encore nettement actif sur l'amygdaline, la salicine et l'arbutine ; il ne perd son action envers ces derniers glucosides qu'après un chauffage de vingt minutes à 80°. Quant à la populine, elle est encore faiblement attaquée par le suc chauffé à 70° ; ce n'est qu'à 72° que le suc d'Helix devient complètement inactif sur la populine.

La méthode des vitesses de réaction donne les résultats suivants : On fait les trois mélanges :

I	II	III
Amygdaline. 1 gr. 25	Phloridzine.. 0 gr. 50	Amygdaline. 1 gr. 25
Suc d'Helix. 0 ^{cc} 5	Suc d'Helix. 0 ^{cc} 5	Phloridzine.. 0 gr. 50
Eau q. s. p... 50 ^{cc}	Eau q. s. p... 50 ^{cc}	Suc d'Helix. 0 ^{cc} 5
		Eau q. s. p... 50 ^{cc}

Après une heure de contact au thermostat à 38°, on dose le sucre réducteur et C N H. On trouve :

	I	II	III
Sucre réducteur.....	0,367	0,125	0,210
CNH.....	0,055	—	0,016

Dans le mélange III, contenant l'amygdaline et la phloridzine, il y a 0 gr. 016 de CNH ; 0 gr. 070 environ de sucre réducteur correspondent à cette quantité de CNH, dans l'hydrolyse de l'amygdaline par le suc d'Helix (voir page 103).

Or, dans III on en trouve 0 gr. 210, c'est-à-dire que 0 gr. 140 de sucre réducteur sont attribuables à l'hydrolyse de la phloridzine. Cette dernière seule au contact du suc d'Helix, dans II, a donné 0,125 de sucre réducteur. On voit donc que la même quantité de suc a dédoublé dans III, non seulement de la phloridzine dans la même proportion que dans II, mais en plus une certaine quantité d'amygdaline. Cette quantité d'amygdaline d'hydrolysée est de beaucoup inférieure à celle d'hydrolysée dans I. On peut interpréter ce dernier fait en admettant que la phloridzine est une substance empêchante du

ferment hydrolysant l'amygdaline. Dans ce cas, les deux actions diastasiques (action sur l'amygdaline et action sur la phloridzine) seraient indépendantes l'une de l'autre, car nous avons vu qu'une même quantité de suc d'Helix, mise en contact d'un mélange de phloridzine et d'amygdaline, hydrolyse le premier glucoside dans la même proportion que s'il avait été seul et de plus une certaine quantité d'amygdaline. Cette expérience donne donc une certaine indication de l'existence de deux ferments différents attaquant l'un l'amygdaline, l'autre la phloridzine.

En somme, nous pouvons tirer de cette étude du dédoublement diastasique de la phloridzine, les conclusions suivantes : 1° Il y a des liquides fermentaires qui contiennent de l'émulsine et qui sont inactifs sur la phloridzine (suc digestif de *Carcinus*, *Maja* et *Portunus*); 2° On peut séparer dans le suc d'Helix, à l'aide de la chaleur, l'action sur la phloridzine des actions sur d'autres glucosides ; 3° La méthode des vitesses de réaction donne des résultats permettant de considérer l'action du suc d'Helix sur la phloridzine comme indépendante de l'action envers l'amygdaline.

C'est sur ces trois ordres de faits que repose la spécificité diastasique. Nous avons examiné dans l'Introduction de cet ouvrage quelle était la valeur de ce critérium

de la spécificité. Nous n'y reviendrons pas. En appliquant à l'hydrolyse diastasique de la phloridzine ce qu'on a appliqué aux autres actions diastasiques nous devons l'attribuer à un ferment distinct de l'émulsine, que nous nommerons *phloridzinase*.

Quant au dédoublement diastasique de la populine, nos expériences ont été peu nombreuses sur ce sujet ; remarquons que nous avons toujours trouvé actifs envers la populine les suc qui étaient actifs envers la phloridzine. Le suc d'*Helix*, qui perd toute activité envers ce dernier glucoside, après un chauffage de 20 minutes à 70°, ne devient inactif sur la populine qu'à 72° environ, tandis que l'action sur l'amygdaline, la salicine et la coniférine n'est annulée qu'à 80°. Il nous est donc impossible de décider actuellement si la populine est hydrolysée par la phloridzinase ou par un ferment spécial.

CHAPITRE IV

Étude de l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'Helix et par l'émulsine d'amandes

On sait que l'émulsine végétale, de même que les acides dilués et chauds, décomposent l'amygdaline en une molécule d'acide cyanhydrique et d'aldéhyde benzoïque et en deux molécules de glucose :



Ce fait et la transformation de l'amygdaline en acide amygdalique, sous l'action des alcalis, permet à Schiff (1) déjà en 1870, d'envisager l'amygdaline comme étant une combinaison de la benzaldehydecyanhydrine avec un biose.

Plus tard, Em. Fischer (2) découvrit que l'extrait de levure limitait son action sur l'amygdaline, en détachant tout simplement une molécule de glucose ; il en résulte

(1) HUGO SCHIFF. Liebigs Annal. der Chemie 154, 1870, 337.

(2) EM. FISCHER. Ueber ein neues, dem Amygdalin ähnliches Glukosid. Ber. d. d. chem. Gesell. 28, 1895, 1508.

L'émulsine d'*Helix pomatia* décompose l'amygdaline de la même façon que l'émulsine d'amandes, quant aux derniers produits de cette décomposition. Mais, ce qu'il y a d'important, c'est qu'avant d'arriver à ce stade ultime de son hydrolyse, l'amygdaline passe par des stades intermédiaires et que ceux-ci sont différents suivant que l'hydrolyse se fait sous l'action de l'une ou de l'autre de ces deux émulsines.

En expérimentant avec le suc d'*Helix*, nous avons été frappé par le manque complet de concordance, entre les proportions dans lesquelles apparaissent le sucre réducteur (calculé en glucose) et l'acide cyanhydrique, et les proportions dans lesquelles devraient se trouver ces deux corps, si la molécule de l'amygdaline se désagrégeait d'un seul coup, en donnant les produits de son hydrolyse complète. Au cours de la décomposition de l'amygdaline par le suc d'*Helix*, on trouve toujours une quantité de sucre réducteur, bien inférieure à ce qu'on devrait trouver par rapport à $CN H$, si le dédoublement de l'amygdaline se faisait directement en deux molécules de glucose et en une molécule de CNH et d'aldéhyde benzoïque. Cet écart entre la quantité théorique et la quantité trouvée de sucre réducteur, est très considérable au début de l'hydrolyse ; à ce moment on trouve moins d'un tiers de la quantité de sucre réducteur qui correspond théoriquement à la quantité de CNH .

Ayant constaté ce fait pour l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'Helix, nous avons voulu voir si les choses se passent de la même façon lorsque l'émulsine d'amandes provoque l'hydrolyse de ce glucoside. Nous avons été surpris de constater dans ce dernier cas, exactement l'inverse de ce que nous avons observé pour l'émulsine d'Helix. C'est-à-dire qu'on trouve au cours du dédoublement de l'amygdaline par l'émulsine d'amandes, un excès de sucre réducteur par rapport à l'acide cyanhydrique.

Nous nous sommes proposé d'étudier de plus près l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'Helix. Ce sont les résultats de cette étude que nous exposons dans ce chapitre. Depuis que nous avons constaté cette différence essentielle de la marche de l'hydrolyse de l'amygdaline, sous l'influence de ces deux espèces d'émulsines, deux travaux, d'auteurs différents, ont paru, sur l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'amandes. L'un est de Manson Auld (1), l'autre de H. E. Armstrong, E. F. Armstrong et E. Horton (2).

Ces auteurs ont constaté les mêmes faits que nous-

(1) MANSON AULD. The hydrolysis of Amygdalin by Emulsin. Journal of the chem. Soc. of London XCIII, 1908, 1251 et 1281.

(2) H. E. ARMSTRONG, E. F. ARMSTRONG and E. HORTON. The Enzymes of Emulsin. Proceedings of the royal society. Serie B; 80, 1908, 321.

même. Il y a au cours de l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'amandes un excès de sucre réducteur, par rapport à CNH. De plus, ils ont montré que cet excès de sucre réducteur, tenait à ce que l'émulsine d'amandes détachait premièrement une molécule de glucose de l'amygdaline ; il se forme ainsi, comme produit intermédiaire, de l'amygdonitrileglucoside, qui est attaqué à son tour par le ferment. En effet, ils ont réussi à isoler l'amygdonitrileglucoside parmi les produits d'une hydrolysé incomplète de l'amygdaline.

Dans nos expériences nous nous sommes servi d'amygdaline purifiée par plusieurs recristallisations dans l'alcool à 85°. Le produit ainsi obtenu contenait 2 mol. d'eau de cristallisation. Il avait comme pouvoir rotatoire :

$$[\alpha]_D^{24^\circ} = \frac{-1.090 \times 100^{\text{cc}}}{2 \text{ gr. } 50 \times 2 \text{ dm}} = -38^\circ$$

Le pouvoir rotatoire de l'amygdaline anhydre serait par conséquent $[\alpha]_D = -41^\circ, 20$.

Pour avoir des résultats comparables entre eux, nous opérons toujours avec des solutions d'amygdaline à 2 gr. 50 p. 100 et à la température de 38°. On dissout 2 gr. 50 d'amygdaline dans environ 90^{cc} d'eau, contenus dans un ballon jaugé à 100^{cc}. Quand la solution est faite, on la met au thermostat pour qu'elle prenne la tempé-

rature ambiante de 38° ; ensuite on l'additionne de suc d'Helix, ou de la solution d'émulsine d'amandes, et on complète par de l'eau distillée à 38° jusqu'à 100^{cc}. Lorsqu'on veut faire, au bout d'un certain temps, un dosage comparatif de CNH et de sucre réducteur, on prélève 10^{cc} de liquide qu'on ajoute, dans le but d'y doser CNH par la méthode Liebig-Denigès, au mélange suivant préparé d'avance dans un verre de Bohême.

eau distillée.....	100 ^{cc}
ammoniaque.....	10 ^{cc}
iodure de potassium à 10 o/o.....	1 ^{cc}
lessive des savonniers.....	10 gouttes.

On dose l'acide cyanhydrique contenu dans les 10^{cc} de liquide, à l'aide d'une solution de nitrate d'argent $\frac{n}{20}$; un centimètre cube de cette solution correspond à 0 gr. 0027 de CNH. Remarquons que la coloration rougeâtre des liquides contenant du suc d'Helix, rend très sensible l'apparition du trouble permanent indiquant la fin de la réaction, dans cette méthode de dosage.

A l'instant même où on a prélevé les 10^{cc} pour le dosage de CNH on prélève également une autre quantité de liquide (2-5^{cc}, suivant que la prise est faite à la fin ou au début de l'hydrolyse) pour y doser le sucre réducteur par la méthode Mohr-Bertrand. Dans ce but on ajoute le liquide prélevé, à 40^{cc} de liqueur cupro-

alcaline, placée dans une fiole Erlenmeyer ; on ajoute de l'eau distillée pour faire en tout 60^{cc}.

Voici une expérience qui montre la différence d'allure de l'hydrolyse de l'amygdaline par les deux émulsines : On met en contact 2 gr. 50^{cc} d'amygdaline, avec 0^{cc}5 de suc d'Helix, d'une part, et avec 0 gr. 50 d'émulsine d'amandes, d'autre part. On fait les dosages comme nous l'avons indiqué, après 1 h. 25, et on trouve :

Emulsine d'Helix			Emulsine d'amandes		
CNH %	Glucose correspondant théoriquement	Sucre réducteur trouvé (calculé en glucose).	CNH %	Glucose correspondant théoriquement	Glucose trouvé
0 gr. 043	0 gr. 574	0 gr. 366	0 gr. 040	0 gr. 535	0 gr. 611

Dans cette expérience que nous venons de relater, l'hydrolyse était déjà assez avancée puisque la quantité de CNH correspond à une hydrolyse d'environ 40 % d'amygdaline. Plus au début de la réaction, l'écart entre sucre théorique et sucre réducteur est plus considérable.

Le tableau suivant résume l'allure d'une hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'amandes.

Hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'amandes.

Temps	CNH o/o	A Glucose corres- pondant théoriquement à CNH	B Sucre réducteur (calculé en glucose) trouvé.	Pour cent d'amygdaline hydrolysée d'après :	
				CNH	Sucre réducteur
35 min.	0 gr. 008	0 gr. 107	0 gr. 195	5,7	10,6
1 heure	0 gr. 018	0 gr. 251	0 gr. 358	13,5	19,6
1 h. 40	0 gr. 32	0 gr. 431	0 gr. 600	23,1	32,8
24 heures	0 gr. 135	1 gr. 799	1 gr. 621	96,4	90,8
48 heures	0 gr. 135	1 gr. 799	1 gr. 650	96,4	92,4

On voit nettement qu'on trouve au cours de l'hydrolyse un excès notable de sucre réducteur, par rapport à CNH. A la fin de la réaction, lorsque la quantité de CNH est devenue constante, on trouve par contre le sucre réducteur en quantité *plus faible* de ce qu'elle devrait être par rapport à CNH. Ce dernier fait a été constaté également par H. et E. Armstrong et E. Horton, fait qui se trouve exprimé dans la courbe qu'ils ont construite, sur l'allure de l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'amandes. Nous allons voir qu'on trouve le même fait avec l'émulsine d'Helix quoique dans ce cas, au cours de la réaction, on observe l'inverse de ce qui se passe pour l'émulsine d'amandes.

Dans le tableau suivant nous résumons les résultats

des dosages de C N H, sucre réducteur et aldéhyde benzoïque, aux différents moments de l'hydrolyse de l'amygdaline par l'*émulsine d'Helix*. Les chiffres qui y sont relatés, ne proviennent pas d'une seule expérience examinée du commencement à la fin de la réaction, mais de plusieurs expériences ; car il est impossible de

Hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'Helix.

CNH pour 100	A Glucose corres- pondant théoriquement	B Sucre réducteur trouvé (calculé en glucose)	$\frac{B}{A}$	Pour cent d'amyg- daline hydrolysée d'après CNH	Aldéhyde benzoïque correspondant théoriquement à CNH	ALDÉHYDE benzoïque trouvé
0 gr. 016	0 gr. 215	0 gr. 070	0,32	11,3		
0 029	0 390	0 181	0,46	20		
0 043	0 575	0 260	0,45	30		
0 048	0 639	0 350	0,55			
0 058	0 773	0 446	0,57			
0 062	0 826	0 340	0,41			
0 070	0 933	0 494	0,53		0,274	0,270
0 081	1 079	0 640	0,59	57		
0 081	1 079	0 606	0,57		0,318	0,310
0 091	1 220	0 782	0,64	65		
0 097	1 295	1 020	0,79			
0 105	1 399	1 040	0,75	75	0,410	0,400
0 124	1 650	1 592	0,96	88		
0 129	1 719	1 515	0,88			
0 132	1 759	1 730	0,98			
0 136	1 812	1 735	0,95	96	0,534	0,525

faire tant de dosages vu la rapidité de l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'Helix. Les résultats ainsi obtenus après de nombreuses expériences, ont été rangés par ordre croissant de C N H. On peut voir sur le tableau, que nous avons trouvé dans deux expériences, une même quantité de C N H à laquelle correspondaient dans les deux cas des quantités différentes de sucre réducteur ; ce même fait, signalé par H. et E. Arsmtrong et Horton pour l'émulsine d'amandes, montre que l'apparition de sucre réducteur et celle de C N H sont en quelque sorte indépendantes.

L'aldéhyde benzoïque a été dosé par sa combinaison avec la phénylhydrazine, en suivant pour cela les indications de E. HÉRISSEY (1). Immédiatement après avoir fait les prises de liquides pour les dosages de sucre réducteur et de C N H, on procède à la distillation de l'aldéhyde benzoïque contenu dans le reste du liquide. Cette distillation est faite dans un courant d'acide carbonique pour éviter l'oxydation de l'aldéhyde. Il faut avoir la précaution de chauffer brusquement le liquide au début, afin d'arrêter le plus vite possible l'action diastasique. Lorsqu'on a distillé le liquide aux trois quarts environ,

(1) E. HÉRISSEY. *Sur le dosage de petites quantités d'aldéhyde benzoïque*. Journ. de chim. et pharm. [6], XXIII, 1906, 60.

on ajoute au distillat son volume du mélange suivant :

Phénylhydrazine	1 ^{cc}
Acide acétique	0 ^{cc} 5
Eau q. s. p.....	100 ^{cc}

L'hydrazone se forme instantanément ; on porte le liquide au bain-marie bouillant pendant vingt minutes. On laisse reposer pendant 24 heures. L'hydrazone est recueillie dans un creuset Gooch muni d'une couche d'amiante qu'on a préalablement calcinée et tarée. On lave l'hydrazone avec un peu d'eau glaciale, et on place le creuset dans le vide sulfurique. Après dessiccation complète, on pèse l'hydrazone ; en multipliant son poids par 0,5408 on a la quantité correspondante d'aldéhyde benzoïque.

On voit nettement sur le tableau précédent, que le sucre réducteur trouvé au cours de l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'Helix, est loin d'être en proportions théoriques avec CNH. Au début de la réaction, lorsque la quantité de CNH équivaut à une hydrolyse de 11° 3 p. 100 d'amygdaline, à laquelle correspond théoriquement 0 gr. 215 de sucre réducteur, on ne trouve que 0 gr. 070 de ce dernier, c'est-à-dire moins d'un tiers de la quantité théorique.

A un degré plus avancé de la réaction, lorsqu'on

trouve CNH en quantité correspondant à une hydrolyse de 50 % de l'amygdaline, on trouve 0 gr. 494 de sucre réducteur, au lieu de 0 gr. 933, c'est-à-dire à peu près la moitié de la quantité théorique. A la fin de la réaction on trouve 95 % de la quantité théorique de sucre réducteur. La valeur du rapport $\frac{\text{sucre trouvé}}{\text{sucre théorique}}$ est donc la plus petite au début de la réaction ; elle augmente à mesure que cette réaction est plus avancée, pour atteindre à la fin de celle-ci une valeur voisine de l'unité.

On peut facilement calculer à quelles quantités d'amygdaline correspondent théoriquement les quantités trouvées de sucre réducteur et celles de CNH. En exprimant en fonction du temps, le pour cent d'amygdaline hydrolysée, calculé respectivement par le sucre réducteur et CNH, on obtient les deux courbes représentées par la fig. 2.

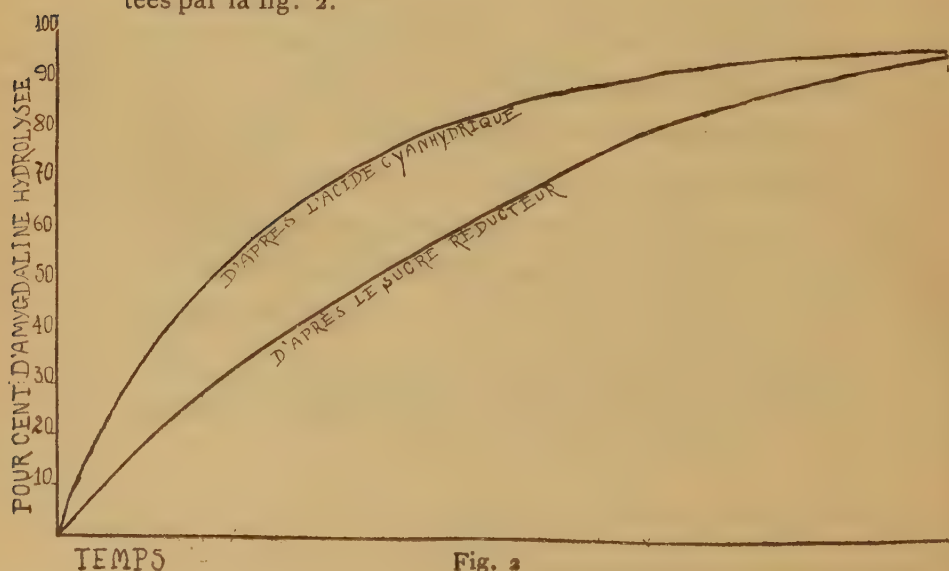


Fig. 2

On peut constater un autre fait important, en considérant les résultats exposés dans le tableau ci-joint : on trouve au cours de la réaction l'aldéhyde benzoïque en quantité théorique par rapport à CNH. En effet, les faibles écarts entre la quantité trouvée et la quantité théorique, sont insignifiants et dans les limites de la précision de la méthode de dosage.

Remarquons enfin, lorsque la réaction est terminée, c'est-à-dire lorsque la quantité de CNH est devenue constante, le sucre réducteur se trouve encore en quantité un peu inférieure à la quantité théorique ; mais si on chauffe le liquide, pour distiller l'aldéhyde benzoïque par exemple, le pouvoir réducteur du liquide augmente et devient théorique. Cette augmentation du sucre réducteur, par chauffage, s'observe à n'importe quel moment de la réaction, mais tandis qu'à la fin elle est suffisante pour amener le sucre en proportions théoriques avec CNH, elle est loin de l'être au début de la réaction, ou on ne trouve qu'une quantité de sucre bien inférieure à la quantité théorique, même après un chauffage prolongé. L'exemple suivant réunit ces deux cas, le premier étant une hydrolyse peu avancée de l'amygdaline, le second une hydrolyse terminée

	I.	II.
CNH.....	0,081	0,136
Glucose théorique.....	1,079	1,812
Sucre réducteur avant le chauffage.	0,606	1,735
Sucre réducteur après le chauffage.	0,720	1,839

En somme on constate au cours de l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'Helix: 1° Que le sucre réducteur se trouve en quantités inférieures à ce qu'il devrait être théoriquement par rapport à C N H. 2° Que l'aldéhyde benzoïque se trouve en proportions théoriques avec CNH. 3° Qu'à la fin de la réaction, CNH, sucre réducteur et aldéhyde benzoïque se trouvent en proportions théoriques.

Ces faits montrent qu'il doit se former des produits intermédiaires, dans l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'Helix, ainsi qu'on l'a démontré pour l'émulsine d'amandes. Dans le cas de cette dernière il se forme de l'amygdonitrileglucoside, ce qui était à prévoir, vu l'excès de sucre réducteur par rapport à CNH, qu'on trouve au cours de l'hydrolyse. Mais dans l'action de l'émulsine d'Helix, comme nous l'avons montré, on trouve par contre une quantité de glucose bien inférieure à la quantité théorique, ce qui ne saurait se produire si l'amygdonitrileglucoside se formait dans ce cas aussi, comme produit intermédiaire. Le fait que l'aldéhyde benzoïque et C N H apparaissent en proportions théoriques, au cours de l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'Helix, exclut la possibilité d'une combinaison du glucose avec l'une ou l'autre de ces deux substances comme produits intermédiaires de l'hydrolyse.

(D'après Schiff (1) le benzaldéhyde-glucose est instable en solution aqueuse).

Il faut donc rechercher la cause du faible pouvoir réducteur du liquide au cours de l'hydrolyse, dans une combinaison des molécules de glucose les unes avec les autres. En effet l'expérience suivante semble montrer que parmi les produits intermédiaires le glucose n'est combiné qu'à lui-même.

On fait agir l'émulsine d'Helix sur l'amygdaline et on arrête la réaction à son début. On se débarrasse complètement de l'aldéhyde benzoïque et de CNH à l'ébullition par entraînement avec la vapeur d'eau. On constate que le liquide possède un pouvoir réducteur correspondant à 0 gr. 390 de glucose. Ce liquide contient encore de l'amygdaline non attaquée à côté du sucre, mais ne contient plus d'aldéhyde benzoïque ni de CNH libres. On l'additionne de suc d'Helix et on laisse deux jours en contact afin que l'action diastasique soit terminée. A ce moment on constate qu'il s'est formé 0 gr. 070 de CNH, qui correspondent théoriquement à 0 gr. 274 d'aldéhyde benzoïque ; or on trouve 0 gr. 271 de ce dernier ; l'aldéhyde benzoïque et CNH sont donc en proportions théoriques.

(1) SCHIFF. *LIEBIGS Annal. der Chemie*, 244, 19

Ensuite on dose le sucre et on trouve qu'il y en a, d'après le pouvoir réducteur calculé en glucose, 1 gr. 522. D'après les quantités trouvées de CNH et d'aldéhyde benzoïque, 0 gr. 934 de glucose proviennent de cette seconde hydrolyse de l'amygdaline. Il y a donc un excès de 0 gr. 588 de glucose, or, avant la seconde action du suc d'Helix, il n'y en avait que 0 gr. 390. En somme, tout s'est passé dans cette seconde action de l'émulsine, comme si l'amygdaline non attaquée lors de la première action, avait fourni en proportions théoriques, du glucose, de l'aldéhyde benzoïque et du CNH, et comme si, en plus, la quantité de sucre réducteur qui se trouvait avant cette seconde action, avait passé de 0 gr. 390 à 0 gr. 588; c'est-à-dire qu'elle aurait presque doublé.

Nous ne voyons pas d'autre interprétation possible de ces faits, que celle admettant que, sous l'action de l'émulsine d'Helix, l'amygdaline est premièrement décomposée en CNH, aldéhyde benzoïque et un biose contenant les deux molécules de glucose de l'amygdaline. Ce biose, une fois mis en liberté, est attaqué à son tour par un agent diastasique qui l'hydrolyse en glucose; de telle façon qu'on trouve toujours du glucose à côté du biose. Ce dernier fait en rend l'étude difficile. Jusqu'à présent nous n'avons fait que quelques essais pour le caracté-

ser, qui ne nous ont pas donné de résultats appréciables. Nous ne pouvons pas affirmer si ce biose est réducteur ou non, mais dans le cas où il le serait, son pouvoir réducteur doit être beaucoup inférieur à celui du glucose. Le pouvoir rotatoire ne donne pas de renseignements utiles car, dans le cas qui nous occupe, on est en présence de plusieurs substances optiquement actives. L'épreuve à la phénylhydrazine permettrait de savoir si ce biose possède une fonction aldéhydique ou non ; jusqu'à présent nous n'avons pas réussi à obtenir avec les produits d'hydrolyse de l'amygdaline une autre osazone que celle du glucose. Tout ce que nous pouvons dire c'est que ce biose, qui est si facilement hydrolysé par le suc d'Helix, l'est aussi par les acides minéraux dilués et chauds, mais l'acide acétique à 20 % ne l'hydrolyse pas après un chauffage d'une heure en tube scellé, à 100°.

On sait que Fischer a trouvé dans l'extrait de levure un ferment limitant son action par l'amygdaline en détachant une molécule de glucose, et que c'est ainsi qu'il a découvert l'amygdonitrileglucoside. Ce ferment correspond à une émulsine dépouillée du ferment détachant l'aldéhyde benzoïque et l'acide cyandrique. Si on trouve un jour l'inverse, c'est-à-dire, si on obtient ce dernier ferment non accompagné de celui qui détache le reste de glucose, on pourra isoler très facilement le biose

de l'agmydaline, car dans ce cas il sera un produit terminal et non pas un produit intermédiaire et transitoire par conséquent, comme c'est le cas pour l'action du suc d'Helix.

En résumé, les actions de l'émulsine d'Helix et de l'émulsine d'amandes, sur l'amygdaline, qui arrivent finalement à la production de deux molécules de glucose et d'une molécule d'aldéhyde benzoïque et de $CN H$, diffèrent l'une de l'autre par les produits intermédiaires de cette réaction. Dans le cas de l'émulsine d'amandes, il a été démontré qu'il se formait, comme produit intermédiaire, de l'amygdonitrileglucoside et la preuve en a été donnée par l'isolement de cette substance. L'émulsine d'Helix, au contraire, ne donne jamais d'amygdonitrileglucoside mais, comme tout le fait prévoir, un biose ; nous n'avons pas encore réussi à isoler ce biose, mais sa présence parmi les produits de l'hydrolyse de l'admygdaline, en rend l'isolement possible.

CHAPITRE V

Dédoublement diastasique du lactose et de ses dérivés

I. — LE LACTOSE

Le lactose a été trouvé en proportions variables dans tous les laits de Mammifères, examinés à ce point de vue. Denigès (1) a montré que les sucres retirés de différents laits (de femme, d'ânesse, de jument, de vache, de chèvre et de brebis) étaient parfaitement identiques ; d'autre part, le *iewfikose*, sucre trouvé dans le lait de buffle égyptien par Pappel et Richmond (2), semble n'être en réalité que du lactose. La teneur en lactose varie suivant les laits, entre 3 et 6 grammes pour 100. Cette

(1) G. DENIGÈS. *Contribution à l'étude des lactoses*. Thèse Pharmacie. Paris, 1892.

(2) A. PAPPEL and H. DROOP RICHMOND. The milk of the Gamoose. *Journ. of the chem. Soc. of London*, 57, 1890, 754.

teneur varie entre certaines limites pour le lait d'un même individu, sous l'influence de nombreux facteurs : alimentation, température environnante, durée de la période de lactation, etc. En dehors du lait le lactose n'a été signalé dans la nature que dans le suc des fruits mûrs du Sapotillier (*Achras sapota*) par Bouchardat (1). C'est la seule fois qu'on a signalé du lactose végétal. Hofmeister (2) a constaté la présence du lactose dans l'urine ; en dehors des cas pathologiques, ce sucre apparaît régulièrement, en petites quantités, dans l'urine plusieurs jours avant la parturition et ne disparaît que quelques jours après. Une interruption brusque de l'allaitement peut être également une cause du passage du glucose dans l'urine.

Le lactose est un sucre réducteur, déviant à droite la lumière polarisée et présentant le phénomène de birotation. Le pouvoir rotatoire de son hydrate, $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$, à la température de 20° , est d'après Schmoeberg, Esbach, Bonnans et Denigès : $[\alpha]_D = 52^{\circ}53$.

Grâce à sa fonction aldéhydique à laquelle il doit son pouvoir réducteur, le lactose peut donner des combinaisons hydraziniques. Il se combine à la phénylhydra-

(1) BOUCHARDAT. *Sur la présence du sucre de lait dans un suc végétal*. Comp. rend. Acad. Sciences. LXXIII, 1871, 462.

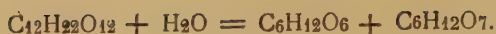
(2) HOFMEISTER. Ueber Lactosurie. Zeitschr. f. physiol. Chem. I, 1877, 101.

zine, sous l'influence de la chaleur, pour donner une osazone de forme cristalline caractéristique, soluble dans l'eau chaude, et fondant instantanément à la température de 200-202°, lorsqu'elle est pure et complètement desséchée.

On sait depuis longtemps (Leuchs, 1811) que le lactose chauffé avec les acides étendus, subit une transformation particulière et qu'il devient de goût plus sucré. D'après les travaux de Bouchardat, Pasteur, Dubrunfaut et autres, on sait aujourd'hui que le lactose subit une hydrolyse, sous l'influence des acides à chaud et qu'il produit ainsi une molécule de glucose et une molécule de galactose. C'est donc un biose réducteur du genre du maltose. Cette hydrolyse du lactose est suivie d'une augmentation du pouvoir réducteur et du pouvoir rotatoire.

Une oxydation ménagée du lactose par la brome, donne naissance à un corps dépourvu de pouvoir réducteur, de réaction acide et se combinant aux différentes bases pour donner des sels. Ce corps, découvert par Fischer et Meyer (1) et nommé par ces auteurs *acide lactobionique*, se dédouble sous l'influence des acides, à chaud, en *galactose* et *acide gluconique* ;

(1) E. FISCHER und J. MEYER. *Oxydation des Milchsuckers*. Ber. d. d. chem. Gesell. 22, 1889, 361.



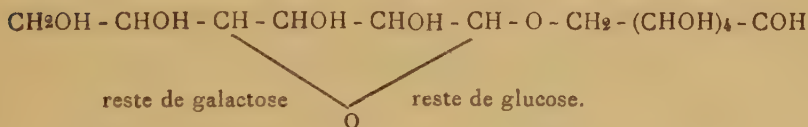
Cette hydrolyse de l'acide lactobionique est intéressante, parce qu'elle nous éclaire sur la structure du lactose. Sous l'influence de l'eau bromée, la fonction aldéhydique du lactose a été transformée en fonction acide ; or, par hydrolyse, comme nous venons de le voir, l'acide lactobionique donne du galactose et de l'acide gluconique ; ce qui montre que la fonction aldéhydique du lactose appartient au reste de glucose, puisque c'est celui-ci qui a été transformé en acide, le reste de galactose n'ayant par contre subi aucune modification.

Une autre preuve de cette particularité de structure du lactose est donnée par l'hydrolyse de la lactosone. Ce dernier corps a été obtenu par Fischer (1), en faisant agir l'acide chlorhydrique fumant, sur la phényllactosazone. Cette dernière perd ses deux restes de phénylhydrazine et il en résulte que l'extrémité de la chaîne du lactose-CHOH-COH à laquelle étaient attachés les deux restes de phénylhydrazine, devient -CO-COH, fonction aldéhyde-acétone, caractéristique des osones. En hydrolysant la lactosone à l'aide des acides on obtient comme

(1) FISCHER. Ueber die Verbindungen des Phenylhydrazins mit den Zuckern. IV. Ber. d. d. chem. Gesell. 21, 1888, 2631.8

produits de l'hydrolyse, du *galactose* et de la *glucosone*, ce qui confirme ce qui a été dit à propos de l'hydrolyse de l'acide lactobionique savoir que la fonction aldéhydique du lactose appartient à un reste de glucose. Nous en avons obtenu une nouvelle preuve, ainsi qu'on le verra plus loin, dans le dédoublement diastasique de la phényllactosazone, dédoublement se faisant en *galactose* et *glucosazone*.

D'après ce que nous avons vu sur le dédoublement de l'acide lactobionique et de la lactosazone, Fischer (1) attribue au lactose la structure suivante :



C'est donc un galactoside du glucose, et comme il est hydrolysé par l'émulsine, ainsi que l'a montré Fischer (2), cet auteur le classe dans la série β à côté du β -méthyl- δ -glucoside et du β -méthyl- δ -galactoside, substances qui sont également attaquées par l'émulsine.

(1) FISCHER. Ueber die Glucoside der Alkohole. Ber. d. d. chem. Gesell. 26, 1893, 2400.

(2) EM. FISCHER. Einfluss der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme I. Ber. d. d. chem. Gesell. 27, 1894, 2985.

Cette classification du lactose dans la série β n'a, par définition, une valeur que si le dédoublement du lactose et des glucosides de la série β est provoqué par un même agent diastasique. Or, cela n'est pas démontré ; au contraire, les travaux de Bourquelot et Hérissé, et Brachin (1) tendent à prouver que le dédoublement du lactose n'est pas dû au même ferment que le dédoublement des β -glucosides ; d'autre part, le kéfir contient d'après Fischer (2) un ferment agissant sur le lactose sans attaquer les β -glucosides.

II. — LES LACTASES

Le dédoublement du lactose, qui se fait sous l'influence des acides, en glucose et galactose, peut être aussi obtenu à l'aide de ferments. Si la preuve de l'existence de ferments du sucre de lait chez les Mammifères n'a été donnée que récemment, leur existence avait été déjà prévue dès 1878 par Dastre. En injectant du lactose dans le torrent circulatoire d'un animal, il montra que ce sucre passait presque en totalité dans l'urine, tandis que le glucose et le galactose, sucres produits

(1) BRACHIN. *Recherches sur la lactase*. Thèse de Pharmacie. Paris 1904.

(2) EM. FISCHER. Ber. d. d. chem. Gesell. 27, 1894, 3479.

par l'hydrolyse du lactose, étaient retenus dans ces mêmes conditions par l'organisme. Comme, d'autre part, le lactose ingéré par la bouche ne se retrouve pas dans les urines et qu'il constitue le principal aliment hydrocarboné du jeune Mammifère, Dastre arriva à la conclusion que le lactose devait être dédoublé pour devenir assimilable et il rechercha, dans l'organisme, des ferments hydrolysant le lactose, à une époque où on ne connaissait pas de procédé sensible pour caractériser cette hydrolyse. De ses nombreuses recherches, Dastre tire les principales conclusions suivantes : « Le lactose est
« utilisé par les animaux, mais il n'est pas assimilable
« par les éléments anatomiques. Il doit donc être offert
« à ces éléments sous une forme différente de celle sous
« laquelle il a été ingéré. Il a dû subir une transfor-
« mation analogue aux transformations digestives. La
« plus simple chimiquement est la transformation en
« glucose et galactose qui sont tous les deux directe-
« ment utilisables par les éléments anatomiques. Ni le
« suc pancréatique ni le suc intestinal pur n'intervien-
« nent sur le lactose. Le foie n'exerce pas non plus sur le
« lactose d'action transformatrice » (1).

Le lactose ne subit pas de fermentation alcoolique sous

(1) A. DASTRE. *Transformation du lactose dans l'organisme*. Archives de Physiologie 22, 1890, 103.

l'influence des diverses espèces de levures en cultures pures ; de même la zymase extraite par le procédé de Buchner est sans action envers le lactose. Cependant, on connaît aujourd'hui certaines espèces de levures faisant fermenter le lactose ; telle est la levure, décrite par Duclaux (1) en 1887, découverte dans un lait et qui produit de l'alcool et de l'acide carbonique aux dépens du sucre de lait.

Cette propriété, que possèdent certaines levures de faire fermenter le lactose, est due à ce qu'elles possèdent à côté de la zymase, une lactase ; car le lactose est fermentescible et c'est seulement après avoir été dédoublé en glucose et galactose qu'il y a fermentation alcoolique. Beyerinck (2) avait montré que les bactéries lumineuses ne se développent sur une solution de lactose qu'à la condition suivante : la solution doit êtreensemencée au préalable avec une levure telle que *Saccharomyces Kéfir* ou *S. Tyrocola*. Il était donc probable que ces levures faisaient subir au lactose une hydrolyse et le rendaient ainsi utilisable par les bactéries lumineuses. Fischer (3) a donné une démonstration décisive de l'exis-

(1) DUCLAUX. *Fermentation alcoolique du lactose*. Annales de l'Institut Pasteur 1887, 573.

(2) BEYERINCK, Die lactase, ein neues Enzym. Centralblatt für Bacteriologie und Parasiten Kunde, VI, 1889, 44.

(3) EM. FISCHER. Einfluss der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme I. Ber. d. d. chem. Gesell. 27, 1894, 2985.

tence d'un ferment hydrolysant le lactose, dans les levures qui le font fermenter. Il a montré qu'une macération filtrée de grains de kéfir décompose facilement le lactose en glucose et galactose ; ensuite il réussit à extraire de la levure de kéfir — qui est capable de faire subir au lactose la fermentation alcoolique — un ferment qui dédouble le lactose.

D'après Bourquelot et Hérissé (1), les champignons tels que le *Penicillium glaucum*, l'*Aspergillus niger* et le *Polyporus sulfureus*, ne contiennent pas de lactase, tout en contenant de l'émulsine ; par contre on trouve dans les graines de plusieurs Rosacées, à côté de l'émulsine, un agent diastasique hydrolysant le sucre de lait (amandes amères, amande du pêcher, semences de poirier). Brachin (2) a trouvé de la lactase chez plusieurs Crucifères.

Depuis que Fischer a donné la méthode des osazones, il est devenu possible de mettre avec certitude en évidence une hydrolyse plus ou moins avancée du lactose. Aussi, dans ces derniers temps, les recherches, chez les animaux, de ferments hydrolysant le lactose, se sont-elles multipliées. Cette méthode des osazones fut dans plusieurs

(1) E. HÉRISSEY. *Recherches sur l'émulsine*. Thèse Pharmacie. Paris 1889, p. 63.

(2) BRACHIN. *Recherches sur la lactase*. Thèse Pharmacie. Paris 1904.

cas mal appliquée, ce qui explique les résultats contraires en apparence auxquels sont arrivés différents auteurs. Carl Voit (1) a prétendu que le lactose n'était pas hydrolysé dans l'intestin du Chien, tandis que Pautz et Vogel (2) trouvèrent que le jejunum de fœtus humain dédoublait énergiquement le lactose. Un peu plus tard Röhmann et Lappe (3) obtinrent une action positive envers le lactose, avec l'intestin grêle de Veau et de Chien et une action négative avec l'intestin de Bœuf adulte. En 1896, Fischer et Niebel (4), en expérimentant avec différents liquides organiques et avec des extraits de différents organes, montrèrent que les macérations aqueuses de muqueuse intestinale de Veau, Bœuf et Cheval, contenaient de la lactase, tandis qu'ils ne trouvèrent pas un pareil ferment dans le sérum sanguin de ces animaux pas plus que chez les Oiseaux et les Poissons; ils montrèrent aussi que le pancréas de Cheval et de Bœuf ne contient pas de lactase.

(1) CARL. VOIT. *Zeitschr. f. Biologie*. 28, 282.

(2) W. PAUTZ und J. VOGEL. Ueber die Einwirkung der Magen und Darmschleimhaut auf einige Biose und auf Raffinose. *Z. für Biologie* 32, 1895, 304.

(3) ROHMANN und LAPPE. Ueber die Lactase des Dunndarms. *Ber. d. d. chem. Gesell.* 28, 1895, 2506.

(4) FISCHER und NIEBEL. Ueber das Verhalten der Polysaccharide gegen einige tierische Sekrete und Organe. *Sitzungsberichte d. preussischen Akademie V*, 1896, 73.

Certains auteurs avaient avancé qu'il existait une lactase pancréatique. Ainsi, Weinland (1) a prétendu que les macérations de pancréas de jeunes chiens hydrolysent le lactose ; Bainbridge (2) aurait obtenu cette hydrolyse par du suc pancréatique de jeunes chiens à la mamelle. Cependant, on peut affirmer à présent que le pancréas ne contient pas de lactase et que c'est à des erreurs de technique que sont dues les prétendues actions du pancréas sur le lactose. Dastre (3) avait déjà depuis longtemps trouvé que le suc pancréatique ne dédoublait pas le lactose. Plus tard, lorsqu'on fut en possession de la méthode des osazones, Portier (4) entreprit la recherche de la lactase chez les animaux et il obtint les résultats suivants : l'intestin grêle de jeunes chiens contient de la lactase en abondance. Chez les Chiens adultes on trouve dans l'intestin la lactase en faibles proportions et chez les vieux Chiens il n'y en a que très peu ou pas du tout. L'intestin grêle de Veaux nourris au lait contient de la lactase en abondance, l'intestin de Lapin dédouble aussi le lactose, tandis que l'intestin d'Oiseaux ne contient pas ce ferment. En ce

(1) WEINLAND. *Zeitsch. für Biol.* XXXVIII, 1899, 607.

(2) BAINBRIDGE. *Journal of Physiology*, 1904.

(3) DASTRE. *loc. cit.*

(4) P. PORTIER. *Recherches sur la lactase*. *Comptes rendus soc. biologie*, 1898, 387.

qui concerne le pancréas de ces divers animaux dont l'intestin contient de la lactase, Portier l'a trouvé toujours dépourvu de ce ferment. Aux mêmes résultats sont arrivés Bierry et Salazar (1) : il y a de la lactase dans l'intestin grêle de Chien mais pas dans le suc intestinal de fistule permanente, ce qui montre que la lactase est localisée dans les parois de l'intestin et qu'elle est par conséquent endocellulaire. La lactase intestinale est présente dans l'intestin de fœtus de Vache dès le quatrième mois et dès le second pour celui de Brebis. Ces deux auteurs n'ont jamais pu trouver de lactase dans le pancréas de Chien et de Lapin. Enfin, Plimmer (2) a complètement confirmé ces résultats, à savoir que le pancréas ne contient pas de lactase. Cette question de la lactase pancréatique doit donc être considérée comme tranchée.

Dans le règne animal la lactase n'avait été signalée que chez les Mammifères. Fischer et Niebel (3) ne l'ont pas trouvée dans le sérum de Poissons et d'Oiseaux, Weinland (4) et Portier (5) signalent son absence dans

(1) BIERRY et G.MO. SALAZAR. *Recherches sur la lactase animale*. Comptes rendus soc. biologie. 27, 1904, 181. — BIERRY. Comptes rendus soc. biol. 1905, 701.

(2) A. PLIMMER. On the alleged adaptation of the pancreas to lactose. Journ. of Physiology 34, 1906, 93.

(3) FISCHER et NIEBEL. *Loc. cit.*

(4) WEINLAND. *Loc. cit.*

(5) PORTIER. *Loc. cit.*

l'intestin d'Oiseaux, et Gorka (1) dans les glandes salivaires d'*Helix pomatia*.

Avec Bierry nous avons trouvé de la lactase chez les Mollusques et chez les Crustacés ; c'était la première fois qu'on signalait une lactase animale provenant d'autres animaux que de Mammifères ; depuis, Straus (2) a signalé un tel ferment chez certains Diptères et Lépidoptères.

Recherches personnelles

1. — MÉTHODES EMPLOYÉES POUR CARACTÉRISER L'HYDROLYSE DIASTASIQUE DU LACTOSE

Comment peut-on savoir si une solution de lactose a subi une inversion, et quel est le degré de cette inversion ? Nous possédons plusieurs méthodes pour cela, dont il est important de connaître la valeur, afin de ne pas conclure à l'absence de lactase lorsqu'on sera en présence d'une hydrolyse pas assez avancée, du lactose,

(1) GORKA. Ueber die physiologische Function der Speicheldrüsen von *Helix pomatia*. Zoologisches Zentralblatt XII, 1905, 305.

(2) STRAUS. Ueber das Vorkommen einiger Kohlenhydratfermente bei Lepidopteren und Dipteren. Zeitschrift für Biologie 52, 1909.

pour pouvoir être mise en évidence par les méthodes que nous possédons.

La méthode dite *polarimétrique* repose sur ce fait que le pouvoir rotatoire d'une solution de lactose augmente lors de l'inversion partielle ou totale. En effet, le lactose hydraté a comme pouvoir rotatoire $[\alpha]_D = + 52^{\circ},5$ et le mélange de glucose et galactose résultant de son hydrolyse $[\alpha]_D = + 66^{\circ},25$. Prenons l'exemple d'une solution de lactose à 2 p. 100 qui aurait été hydrolysé dans les proportions de 20 p. 100 : Avant toute hydrolyse, cette solution dévie le plan de la lumière polarisée de $\alpha = + 2^{\circ},10$ (pour un tube d'une longueur de 2 dm.), et après une inversion de 20 p. 100 : $[\alpha] = + 2^{\circ},21$; il y a donc une augmentation de $0^{\circ},11$ ou de 7 minutes environ. Ainsi que le fait remarquer Brachin (1), on ne peut pas affirmer que le lactose a subi une hydrolyse, par ce seul fait d'une augmentation de la déviation de quelques minutes seulement. En tout cas, pour la concentration de 2 p. 100 de lactose, on ne peut pas mettre en évidence par cette méthode une hydrolyse de moins de 20 p. 100.

La seconde méthode est basée sur l'augmentation du pouvoir réducteur lors de l'inversion partielle ou totale d'une solution de lactose. Voyons quel résultat donne

(1) BRACHIN. *Recherches sur la lactase*. Thèse de Pharmacie, Paris 1904.

cette méthode pour le même exemple qui nous a servi dans la méthode précédente, en déterminant les pouvoirs réducteurs à l'aide de la méthode de Mohr-Bertrand. Soit une solution d'hydrate de lactose à 2 p. 100. Quatre centimètres cubes de cette solution réduisent $106^{10gr.7}$ de cuivre ; après une inversion de 20 p. 100 du lactose, les quatre centimètres cubes contiennent un mélange de galactose, glucose et lactose, dans les proportions suivantes et chacun de ces sucres réduisant une certaine quantité de cuivre :

$$\begin{array}{rcl}
 \text{lactose... } 0gr.064 & = & 86^{mgr.5} \text{ cuivre} \\
 \text{glucose .. } 0gr.008 & = & 16, \quad 5 \quad - \\
 \text{galactose. } 0gr.008 & = & 15, \quad 5 \quad - \\
 \hline
 & & 118^{mgr.5} \text{ cuivre}
 \end{array}$$

Le pouvoir réducteur des quatre centimètres cubes a donc augmenté de $11^{mgr.8}$ de cuivre, ce qui se traduit dans la méthode de dosage Mohr-Bertrand par l'emploi de 11^{cc} environ de la solution titrée de permanganate au lieu de 10^{cc} qu'il fallait avant l'inversion. Ce fait, qu'on a employé un centimètre cube en plus de permanganate est plus significatif que l'augmentation de déviation optique de quelques minutes, mais seul il n'est pas suffisant pour pouvoir affirmer avec certitude qu'on est en présence d'une hydrolyse du lactose. En tout cas, on voit par cet exemple qu'une hydrolyse de moins de

20 p. 100 de lactose se traduirait par l'augmentation de moins d'un centimètre cube de la quantité de permanganate, ce qui est trop près des limites des erreurs inévitables. Brachin a montré qu'en employant la méthode d'Allihn, un dédoublement de 10 p. 100 de lactose à 1 gr. p. 100 se traduit à la pesée par une différence de 10^{mgr.} de cuivre réduit, ce qui a à peu près la même valeur que par la méthode de Mohr-Bertrand.

Les résultats positifs, qu'on obtient par l'une des deux méthodes que nous venons d'examiner, ont une valeur incontestable lorsqu'on peut les vérifier par la *méthode des osazones* qui est principalement une méthode qualitative. Elle repose sur ce fait, que le lactose chauffé avec de la phénylhydrazine acétique donne une osazone complètement soluble dans l'eau chaude, tandis que le glucose et le galactose donnent une osazone presque complètement insoluble. Cependant, d'après Bierry et Brachin, qui ont étudié la précision de cette méthode, il n'est pas possible d'isoler l'osazone insoluble à chaud dans le cas où le lactose n'a pas subi une hydrolyse au moins d'environ 20 p. 100. La raison en est que les osazones du glucose et du galactose sont solubles à chaud dans une certaine proportion de lactosazone; de telle façon que, si ces osazones se trouvent en présence et que la lactosazone soit en excès, celle-ci dissolvera à

chaud les osazones du glucose et du galactose qu'il sera par conséquent impossible d'isoler.

Par la cryoscopie, on peut également mettre en évidence une inversion du lactose, le point de congélation d'une solution de lactose inverti étant plus bas que celui d'une solution de lactose. Ce principe a été employé par V. Henri et Ch. Marie (1) pour l'hydrolyse du saccharose par les acides. En ce qui concerne le lactose, la méthode cryoscopique est aussi sensible que la méthode polarimétrique. Ainsi, une solution de lactose à 2 p. 100 possède un abaissement du point de congélation $\Delta = 0^{\circ},10$; si cette solution a subi une hydrolyse de 20 p. 100, le point de congélation devient $\Delta' = 0^{\circ},12$ environ. Il y a donc une différence de $0^{\circ},02$, ce qui équivaut, au point de vue de la précision à quelques minutes de la déviation polarimétrique. Cette méthode présente l'avantage par ce qu'elle ne nécessite pas la défécation préalable des liquides. En opérant comparativement avec des témoins avec suc bouilli, on voit quel est l'abaissement provoqué par le liquide digestif ou la solution de ferment.

Enfin, Brachin (2) a institué une méthode iodométrique de dosage du lactose inverti, qui, employée corrélati-

(1) VICTOR HENRI et CH. MARIE. *Compt. rend. soc. biol.*, 1899.

(2) BRACHIN. *Loc. cit.*

vement à la méthode polarimétrique et la méthode des osazones donne des résultats satisfaisants, sans être toutefois plus sensible que les autres méthodes.

En somme, on voit qu'il est impossible par aucune des méthodes employées de reconnaître avec certitude une hydrolyse du lactose, si elle est inférieure à 20 % de ce sucre. Ce fait est important pour la recherche de la lactase. Il faudra donc laisser le lactose assez longtemps en contact des liquides fermentaires afin que l'hydrolyse, si elle a lieu, soit assez avancée pour qu'elle puisse être constatée à l'aide des méthodes que nous possédons. Il ne suffit pas, pour le lactose, qu'il ait subi un commencement d'hydrolyse pour qu'on puisse mettre celle-ci en évidence, comme pour l'hydrolyse du saccharose, par exemple, qu'on reconnaît, dès le début, à l'aide de la liqueur de Fehling.

Dans nos expériences sur le dédoublement diastasique du lactose, nous avons déféqué les liquides dans le but de dosages polarimétriques, par le nitrate mercurique, suivant la méthode que nous avons indiquée à propos des glucosides. Rappelons que le nitrate mercurique a été appliqué dans les dosages polarimétriques du lactose dans le lait, par Wiley (1) en 1884 et par

(1) WILEY, *loc. cit.*

Vieth (1) et que c'est à tort qu'on a attribué l'application de cette substance pour la désalbuminisation du lait à Patein et Dufau (2).

Le lactose dont nous nous servions avait été purifié par plusieurs recristallisations de ses solutions aqueuses. Il avait ainsi un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D = + 54^{\circ}8$.

II. — RECHERCHE DE LA LACTASE CHEZ LES MOLLUSQUES

Helix pomatia L. — Le suc digestif de différentes espèces d'*Helix*, hydrolyse le lactose. Cette action envers le sucre de lait est vraiment remarquable par son intensité. Nous ne saurions trop insister sur cette activité de la lactase d'*Helix*, qui est tout aussi grande que celle des lactases les plus actives de jeunes Mammifères. Avec le suc d'*Helix*, ce n'est pas un dédoublement lent et douteux du lactose qu'on obtient, mais un dédoublement rapide, qu'on peut mettre en évidence au bout de quelques heures et qui est complet au bout d'un jour ou

(1) VIETH, *loc. cit.*

(2) G. PATEIN et E. DUFAU. *De l'emploi du nitrate acide de mercure dans l'analyse des liquides sucrés*. Journ. de pharm. et de chim. 1902, 221.
G. PATEIN. *Dosage du lactose dans le lait*. Journ. de pharm. et de chim. 1902, 507.

deux. Les exemples suivants donneront une idée de l'activité de la lactase d'*Helix pomatia*.

On fait avec du lactose ayant le pouvoir rotatoire $[\alpha]_D = + 54^{\circ},8$ les mélanges suivants :

A	{	Solution de lactose à 2 gr. 50 p. 100	45 ^{cc}
		Suc d' <i>Helix</i>	3 ^{cc} 5
B	{	Solution de lactose à 2 gr. 50 p. 100	45 ^{cc}
		Suc d' <i>Helix bouilli</i>	3 ^{cc} 5
C	{	Eau distillée	45 ^{cc}
		Suc d' <i>Helix</i>	3 ^{cc} 5

Avant d'additionner la solution de lactose de suc, on l'avait portée à l'ébullition pour faire disparaître tout phénomène de multirotation. Les trois mélanges sont additionnés de toluol et placés à l'étuve à la température de 37°-39°.

Après 23 heures de contact on les traite respectivement par 5^{cc} de la solution de nitrate mercurique qu'on neutralise par 3^{cc}5 d'une solution de soude. On examine les liquides ainsi déféqués au polarimètre et on trouve les déviations suivantes :

- A. $\alpha = + 2^{\circ},63$
- B. $\alpha = + 2^{\circ},13$
- C. $\alpha = + 0^{\circ}$

Si on tient compte de la dilution, qu'ont subi les liquides par le traitement au nitrate mercurique, le

mélange B, après avoir été déféqué possède le pouvoir rotatoire :

$$[\alpha]_D = \frac{+ 2^{\circ},13 \times 57^{cc}}{1,87 \cdot 124 \times 2} = + 54^{\circ}$$

ce qui montre que le lactose mis en contact avec le suc *bouilli* a conservé le pouvoir rotatoire qu'il avait auparavant. Par contre, le pouvoir rotatoire du lactose, mis en contact avec le suc non bouilli, a augmenté ; ce dernier liquide dévie la lumière polarisée de $0^{\circ},50$ en plus que le liquide précédent. On peut facilement calculer, d'après cette augmentation de la déviation, quelle proportion de lactose a été hydrolysée, en se servant de la formule suivante :

$$x = \frac{100 \times (\alpha - \alpha') \times [\alpha]_D}{(\alpha - [\alpha]_D) \times \alpha'}$$

dans laquelle x donne le pour cent de lactose hydrolysé ; α' représente la déviation obtenue au polarimètre par la solution de lactose avant toute interversion, α celle obtenue au moment où l'on veut déterminer le degré d'inversion qu'a subi la même solution ; $[\alpha]_D$ est le pouvoir rotatoire spécifique du lactose, et α la moyenne arithmétique des pouvoirs rotatoires spécifiques du glucose et du galactose. En appliquant cette formule à l'expérience précédente, on obtient :

$$x = \frac{100 \times (2,61 - 2,13) \times 54}{(66,25 - 54) \times 2,13} = 98$$

Dans l'expérience que nous venons de relater, il y avait donc 98 % du lactose hydrolysé, à en juger d'après le changement du pouvoir rotatoire.

En appliquant à cette même expérience la méthode basée sur le changement de pouvoir réducteur, on obtient le résultat suivant : On dose dans les liquides A et B, déféqués comme il a été dit, le pouvoir réducteur.

On trouve que quatre centimètres cubes de A réduisent 138^{mgr} de cuivre, tandis que la même quantité de B n'en réduit que 99^{mgr} . Quatre centimètres cubes du liquide B contiennent donc 74^{mgr} de lactose ; si ce dernier était complètement interverti, le pouvoir réducteur de deux centimètres cubes deviendrait égal à 141^{mgr} de cuivre ; or, le pouvoir réducteur de notre liquide A équivaut à 138^{mgr} , ce qui représente une hydrolyse d'environ 96 % du lactose.

L'écart des résultats obtenus par les deux méthodes est donc d'environ 2 %.

En tout cas nous pouvons affirmer que, si l'hydrolyse du lactose n'était pas complète, elle n'était pas loin de l'être.

Enfin, les trois liquides ont été soumis à l'épreuve des osazones. Dans ce but, on les a additionnés de phénylhydrazine acétique et on les a portés au bain-marie bouillant pendant une heure et demie.

A chaud, il s'est formé une grande quantité d'osazone du glucose et du galactose dans le liquide A seulement. Dans B il ne s'est formé d'osazone que par refroidissement, osazone entièrement soluble à chaud et formée par de la lactosazone. Le liquide c ne contient pas trace de sucre réducteur et ne donne lieu à aucune formation d'osazone.

Voici une autre expérience dans laquelle la durée de contact a été de 48 heures. On fait les mélanges suivants :

A	{	Solution de lactose à 2 gr. 50 p. 100	47 ^{cc}
		Suc d'Helix	2 ^{cc}
B	{	Solution de lactose à 2 gr. 50 p. 100.....	47 ^{cc}
		Suc d'Helix <i>bouilli</i>	2 ^{cc}

Après 48 heures de contact à la température de 37°-39° les liquides sont traités par une même quantité de nitrate mercurique. Le liquide A donne au polarimètre $\alpha = 3^{\circ},04$ et B donne $\alpha = 2^{\circ},45$; entre ces deux déviations, il y a une différence de $0^{\circ},59$, ce qui correspond à une hydrolyse de 100 % du lactose. A l'épreuve par la phénylhydrazine, A seulement a donné de la glucosazone et de la galactosazone, toutes les deux insolubles à chaud, tandis que, dans B il n'y a de formation d'osazone que par refroidissement, osazone qui se redissout complètement à chaud et qui est de la lactosazone.

Le suc d'*Helix*, précipité par l'alcool, hydrolyse également le lactose, toutefois avec moins d'énergie que ne le fait le suc même.

Helix aspersa MÜLL. — Le suc digestif de ce Mollusque contient de la lactase. L'expérience suivante en est la preuve :

On fait les trois mélanges suivants .

A	{	Solution de lactose à 3 p. 100	50 ^{cc}
		Suc	0 ^{cc} 5
B	{	Solution de lactose à 3 p. 100	50 ^{cc}
		Suc <i>bouilli</i>	0 ^{cc} 5
C	{	Eau distillée.....	50 ^{cc}
		Suc.,.....	0 ^{cc} 5

Après deux jours de contact à la température de 37°-39°, les liquides sont déféqués au nitrate mercurique. A l'épreuve par la phénylhydrazine, A donne une quantité considérable d'osazones insolubles à chaud. Dans B, il ne se forme d'osazone que par refroidissement ; cette osazone est entièrement soluble à chaud ; elle a été recueillie sur un filtre, et puis lavée à l'eau froide et, après dessiccation complète à l'étuve, cette osazone fondait instantanément au bloc Maquenne à 213°-215°. C'était donc de la lactosazone. Le liquide C ne contenait pas de sucre réducteur et n'a donné aucune osazone.

Helix hortensis O. F. MÜLL. — Ce Mollusque est de très petite taille ; au lieu de nous servir de suc digestif comme dans les cas d'*Helix pomatia* et de *H. aspersa*, nous avons employé des macérations aqueuses de tube digestif, avec le suc qu'il contenait. L'expérience, faite avec cette macération de la même façon que les précédentes avec du suc, nous a donné une hydrolyse avancée du lactose après deux jours de contact à la température ordinaire du laboratoire, hydrolyse constatée par la méthode polarimétrique et par l'épreuve à la phenylhydrazine.

Arion rufus L. — Il en est de même pour les macérations du tube digestif d'Arion, qui contiennent une lactase que nous avons mise en évidence de la même façon que pour les autres Mollusques.

Aplysia punctata CUV. — Nous n'avons recherché la lactase que chez un seul Mollusque marin, l'Aplysie, dont le suc, comme nous le verrons, est inactif envers le raffinose. Ce même suc, par contre, hydrolyse le lactose ; il contient donc une lactase.

On met en contact 12^{cc} de suc d'Aplysie avec 50^{cc} d'une solution de lactose à 3 %. On fait un témoin avec suc bouilli et un avec suc non bouilli plus eau distillée. Après 28 heures de séjour à la température de 37°-39°, les liquides sont déféqués au nitrate mercurique. A

l'examen polarimétrique, on trouve que la solution de lactose, qui a été en contact de suc d'*Helix* non bouilli possède une déviation plus forte que celle qui a été en contact de suc bouilli. Cet écart correspond à une hydrolyse de 58 % environ de lactose.

L'épreuve à la phénylhydrazine démontre également que le lactose a été hydrolysé sous l'influence du suc d'*Aplysie*. Le témoin avec suc bouilli n'accuse aucune hydrolyse du lactose et le témoin avec suc plus eau distillée, ne contient pas de sucre réducteur.

III. — RECHERCHE DE LA LACTASE CHEZ LES CRUSTACÉS

On trouve, dans le suc digestif de Crustacés, un ferment hydrolysant le lactose. Ce ferment, nous ne l'avons pas trouvé, cependant, chez toutes les espèces de Crustacés dont le suc a été examiné à ce point de vue. Les résultats positifs que nous avons obtenus ont une valeur beaucoup plus réelle par rapport aux résultats négatifs. En effet, lorsqu'on a bien constaté, en dehors de toute erreur, que le suc d'un crustacé hydrolyse le lactose, on peut en conclure qu'il existe, dans ce suc, un ferment du

lactose, tout au moins à un certain moment donné, tandis que les résultats négatifs ne permettent pas de tirer une conclusion ferme que ce ferment n'existe pas chez l'animal avec le suc duquel on expérimente. Car il se peut que, dans certaines conditions, ce ferment apparaisse dans le suc digestif, comme nous en avons des exemples pour l'émulsine de certains Crustacés; d'autre part, nous savons qu'on ne peut mettre en évidence une hydrolyse du lactose que si elle est assez avancée, de telle façon que, si on a un suc n'hydrolysant que lentement le lactose, on ne reconnaîtra pas cette action si on cherche à la caractériser à un moment où elle n'est pas suffisamment avancée. Ce dernier fait explique les résultats négatifs que nous avons premièrement obtenus avec le suc de quelques Crustacés; mais en prolongeant la durée du contact de ce suc digestif avec le lactose, nous avons obtenu une hydrolyse manifeste de ce sucre.

Des expériences comparatives nous ont montré que des sucs, complètement inactifs envers le lactose, sont très actifs dans, les mêmes conditions, envers l'amygdaline; ce qui montre que ces deux actions diastasiques sont indépendantes l'une de l'autre et qu'elles sont attribuables à deux ferments distincts, ainsi que l'admettent la plupart des auteurs.

Astacus leptodactylis. ESCHOLZ. — La lactase existe

dans le suc digestif de l'Ecrevisse (1). Ce suc est légèrement acide. L'expérience suivante donnera une idée sur l'intensité de cette hydrolyse, intensité moins grande que celle du suc d'*Helix*. On fait les trois mélanges suivants :

A	{	Solution de lactose à 4 p. 100.....	60 ^{cc}
		Suc d' <i>Astacus</i>	3 ^{cc}
B	{	Solution de lactose à 4 p. 100.....	60 ^{cc}
		Suc <i>bouilli</i> d' <i>Astacus</i>	3 ^{cc}
C	{	Eau distillée.....	60 ^{cc}
		Suc d' <i>Astacus</i>	3 ^{cc}

Le séjour à l'étuve de ces mélanges a été de 2 jours 1/2, avec toluol comme antiseptique. Après avoir traité les trois mélanges au nitrate mercurique, on trouve au polarimètre les déviations suivantes :

- A. $\alpha = + 3^{\circ},69$
- B. $\alpha = + 3^{\circ},36$
- C. $\alpha = + 0^{\circ},0$

La différence entre la déviation de A et de B est de 0°33, ce qui correspond à une hydrolyse de 38 % environ du lactose.

Par les osazones, on constate également que le lactose de A a subi une hydrolyse tandis que celui de B n'a pas été hydrolysé.

(1) J. GIAJA et M. GOMPEL. *Sur la digestion des glucosides et des hydrates de Carbone chez l'Ecrevisse*. Comp. rendus soc. biol. 62, 1907, 1197.

Astacus fluviatilis ROND. — Le suc de *A. fluviatilis* hydrolyse le lactose avec une énergie comparable à celle du suc de *A. leptodactylis*.

Palinurus vulgaris LATR. — Nous avons vu à propos des autres sucres et des glucosides que les propriétés diastasiques du suc de Langouste sont essentiellement variables et faibles dans la plupart des cas. Avec le suc de ce crustacé, nous n'avons pas réussi une seule fois à provoquer une hydrolyse du lactose.

Homarus vulgaris M. EDW. — Nous avons trouvé le suc de ce Crustacé toutes les fois actif envers le lactose. Le suc digestif de Homard est toujours franchement acide au tournesol. Avec un tel suc, provenant d'une douzaine d'individus, on fait l'expérience suivante : on met 10^{cc} de suc en contact avec 25^{cc} d'une solution de lactose à 4 %; un autre mélange est fait avec du suc bouilli et un témoin avec du suc plus eau distillée. Après 5 jours de séjour à la température de 37-39°, on constate, par l'épreuve à la phénylhydrazine, que le suc non chauffé a seul hydrolysé le lactose, et par la méthode polarimétrique, on constate que cette hydrolyse correspond à environ 60 % du lactose.

Carcinus maenas LEACH. — Le suc de ce Crustacé est légèrement alcalin. Il est inactif envers le lactose ; de même, après avoir été légèrement acidifié par l'acide

acétique, tout au moins dans l'espace de trois jours de contact. Ce même suc, qui est inactif sur le lactose, dédouble énergiquement l'amygdaline, mais n'attaque pas la phloridzine.

Maja squinado LATR. — Nous avons premièrement annoncé que le suc de Maja était inactif envers le lactose⁽¹⁾. Mais, plus tard, ayant refait des expériences avec le suc digestif de ce Crustacé, dans lesquelles nous avons fait durer le contact du suc avec le lactose 5 jours au lieu de 2 jours, nous avons obtenu une hydrolyse très nette du lactose. Une telle expérience, faite avec 7^{cc} de suc et 35^{cc} d'une solution de lactose à 4 %, a donné une hydrolyse d'environ 50 % après 5 jours de contact à la température de 37°-39°.

Avec le suc digestif de *Platycarcinus pagurus* Let *Portunus puber* L, nous n'avons pas obtenu d'hydrolyse du lactose après 3 jours de contact, soit à la température de 37°-39°, soit à la température ordinaire du laboratoire.

De ce qui précède sur le dédoublement du lactose par le suc digestif des Mollusques et des Crustacés, nous

(1) J. GIAJA. *Ferments des glucosides et des hydrates de carbone chez les Crustacés marins*. Compt. rend. Soc. biologie 63, 1907, 508.

BOURQUELOT et HÉRISSEY. *Sur la lactase*. Journ. de pharm. et de chim. 1903.

pouvons conclure qu'il existe, chez ces animaux, un ferment comparable à la lactase des Mammifères. C'est la première fois qu'on signale une lactase provenant d'autres animaux que de Mammifères. La lactase, que nous avons trouvée dans le suc de certains Mollusques (*Helix pomatia* surtout), est remarquable par l'intensité de son action.

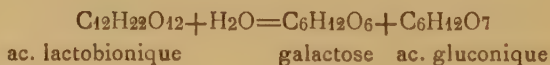
On sait que Fischer attribuait l'action qu'exerce l'émulsine d'amandes sur les glucosides et l'action qu'elle exerce sur le lactose à un seul et même ferment. Bourquelot et Hérissé attribuent au contraire ces deux actions à deux ferments : la première à la lactase, la seconde à l'émulsine proprement dite. L'opinion de ces deux derniers auteurs est basée sur des faits montrant qu'on peut trouver ces deux actions diastasiques isolées l'une de l'autre. Ainsi on trouve : 1° A la fois de la lactase et de l'émulsine : dans les amandes amères, amandes de pêcher et semences de pommier ; 2° Emulsine sans lactase : *Aspergillus niger*. *Polyporus sulfureus*, feuilles de laurier-cerise ; 3° Lactase sans émulsine : Levure de kéfir.

Dans le suc digestif de différents Crustacés, nous avons également trouvé, soit les deux actions diastasiques ensemble, soit l'action envers l'amygdaline seule à l'exclusion de celle envers le lactose.

IV. — DÉDOUBLEMENT DIASTASIQUE DE L'ACIDE LACTOBIONIQUE

Par oxydation ménagée du lactose à l'aide de l'eau bromée, E. Fischer et J. Meyer (1) ont obtenu un acide possédant le même nombre d'atomes de carbone que le lactose et se dédoublant sous l'action de l'acide sulfurique, à chaud, en galactose et acide gluconique. Ils ont nommé ce nouveau corps : acide lactobionique. L'acide lactobionique n'est pas réducteur ; c'est donc la fonction aldéhydique du lactose qui a été transformée en fonction acide ; et comme l'acide lactobionique donne par hydrolyse du galactose et de l'acide gluconique, on a là une nouvelle preuve que la fonction aldéhydique du lactose appartient au reste du glucose.

Le dédoublement de l'acide lactobionique par les acides est donc tout à fait analogue au dédoublement du lactose



Cependant, Fischer (2) a montré que l'émulsine qui,

(1) E. FISCHER und J. MEYER. *Oxydation des Milchzuckers*. Ber. d. d. chem. Gesell. 22, 1889, 361.

(2) EM. FISCHER. Einfluss der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme. II. Ber. d. d. chem. Gesell. 27, 1894, 3479.

comme on le sait, hydrolyse le lactose, est sans aucune action sur l'acide lactobionique et son sel de calcium.

Pour préparer l'acide lactobionique, nous avons suivi les indications de Fischer et Meyer, et de Ruff et Ollendorff (1), mais nous nous en sommes éloigné, quant à l'emploi de l'acide acétique, que nous avons complètement rejeté.

On dissout une partie de lactose dans sept parties d'eau et on l'additionne de 0 gr. 8 de brome par gramme de lactose. On laisse le mélange pendant quatre jours à la température ordinaire en ayant soin d'agiter de temps en temps pour faciliter la dissolution du brome. Ensuite on chasse presque complètement ce dernier par un courant d'air, tout en maintenant pendant cette opération la température du liquide à 30°; le reste du brome est transformé en acide bromhydrique par l'hydrogène sulfuré. On se débarrasse de ce dernier par un courant d'air. On neutralise l'acide bromhydrique par le carbonate de plomb et l'oxyde d'argent; après filtration on précipite l'argent par l'hydrogène sulfuré. Le filtrat est concentré dans le vide jusqu'à consistance sirupeuse. On le traite par de l'alcool absolu et on obtient ainsi une masse consistante qu'on dissout dans

(1) RUFF und OLLENDORFF. Ber. d. d. chem. Gesell. 33, 1806.

une petite quantité d'eau distillée ; on porte le liquide au bain-marie bouillant, on le neutralise par du carbonate de chaux afin de faire passer l'acide lactobionique à l'état de sel de chaux ; après neutralisation on filtre le liquide bouillant et on le concentre de nouveau dans le vide jusqu'à consistance sirupeuse. Ce sirop contient à côté du lactobionate de chaux, du lactose non oxydé. Pour se débarrasser de ce dernier on traite le sirop par de l'alcool absolu ; le lactobionate ne tarde pas à se prendre sous une forme cassante et on le broie dans un mortier avec de l'alcool à 80° ; ainsi délayé, on le chauffe au bain-marie avec réfrigérant ascendant. Il devient sirupeux à chaud, mais il se prend en masse solide par refroidissement ; on décante l'alcool, et on épuise de nouveau par l'alcool à 80° jusqu'à ce que le lactobionate ne réduise plus la liqueur de Fehling. On régénère enfin l'acide lactobionique, de son sel de chaux, par l'acide oxalique.

Nous avons ainsi obtenu un sirop très acide et incolore, facilement soluble dans l'eau et ne réduisant pas du tout la liqueur de Fehling. Chauffé avec les acides dilués il a donné du galactose, que nous avons caractérisé par son osazone, et de l'acide gluconique caractérisé par le gluconate de chaux. Pour hydrolyser l'acide lactobionique on en dissout quatre grammes dans 30 cc.

d'acide sulfurique à 5 p. 100, et on chauffe pendant une heure à 100°. Après refroidissement on neutralise le liquide par du carbonate de baryum; le filtrat, qui possède un fort pouvoir réducteur, est concentré dans le vide jusqu'à consistance sirupeuse. Le sirop est repris par un peu d'eau et en traitant la solution par de l'alcool absolu bouillant, le gluconate de baryum précipite, tandis que le galactose reste en solution dans l'alcool. Le gluconate de baryum a été transformé en gluconate de chaux par l'acide sulfurique et le carbonate de chaux; on a concentré ensuite le liquide, et le gluconate de chaux a cristallisé.

Le galactose a été repris après évaporation de l'alcool, par un peu d'eau, et on l'a caractérisé par son osazone insoluble à chaud et fondant à 212-214°.

Juqu'à présent on n'avait pas signalé de dédoublement diastasique de l'acide lactobionique. L'émulsine d'amandes, qui est active envers le lactose est, d'après Fischer, inactive envers l'acide lactobionique et son sel de chaux, quoique, comme le fait remarquer cet auteur, c'est au contraire qu'on aurait dû s'attendre, vu la grande analogie du lactose et de l'acide lactobionique.

Le suc digestif d'*Helix*, qui dédouble, comme nous l'avons vu, le lactose, possède aussi la propriété d'hydrolyser l'acide lactobionique. Nous avons expérimenté

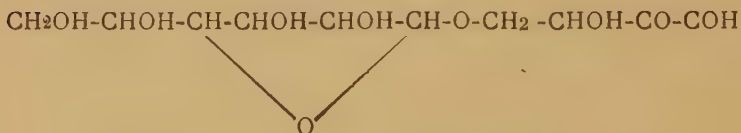
avec l'acide lactobionique en solutions peu concentrées, avec sa lactone simplement dissoute dans l'eau et avec son sel de calcium.

Ces trois produits sont vite hydrolysés par le suc d'Helix. En laissant 3 jours en contact 2 cc. de ce suc avec 2 gr. de lactobionate de chaux, il y a environ 80 % de ce dernier d'hydrolysé ; l'hydrolyse se fait de la même façon que par les acides. Nous avons caractérisé le galactose et l'acide gluconique, comme nous l'avons fait pour l'hydrolyse par les acides.

La lactase intestinale de Mammifères (fœtus de brebis et de veau) qui est très active sur le lactose, est inactive sur l'acide lactobionique, sa lactone et son sel de chaux. Toutefois après un contact de plusieurs jours il apparaît des traces de sucre réducteur qui n'augmente guère les jours suivants ; aussi est-on en droit de se demander s'il s'agit d'une action diastasique. Nous verrons plus loin qu'on observe la même chose avec l'acide maltobionique qui est facilement hydrolysé par le suc d'Helix, tandis que la maltase pancréatique et intestinale de Chien sont sans action sur ce même corps.

On doit donc admettre, ou bien que la lactase de Mollusques est différente de la lactase de Mammifères, ou bien attribuer l'hydrolyse de l'acide lactobionique à un ferment distinct de la lactase, une *lactobionase*, con-

La fonction aldéhydrique du lactose appartient au reste de glucose qui est combiné au reste de galactose, dans la molécule du biose. Fischer en a donné la preuve, ainsi que nous l'avons vu, par les produits d'hydrolyse de la *lactosone*. La lactosone est, on le sait, un aldocétose résultant de la lactosazone dont on a détaché la phénylhydrazine, soit par l'acide chlorhydrique fumant, soit par l'aldéhyde benzoïque. Elle peut être représentée par la formule suivante :



En hydrolysant cette osone par les acides, Fischer a montré qu'il se formait du *galactose* et de la *glucosone*, ce qui signifie nettement, que la phénylhydrazine était attachée au reste de glucose dans la lactosazone, et que c'est au glucose qu'appartient la fonction aldéhydrique du lactose.

Une autre preuve de la constitution du lactose a été cherchée par Fischer (1) dans le dédoublement de la lactosazone, en essayant d'hydrolyser cette osazone par

(1) EM. FISCHER. Verbindungen des Phenylhydrazins mit den Zuckerarten. II. Ber. d. d. chem. Gesell. 20, 1887, 821.

les acides, de la même façon que le lactose. Mais cette hydrolyse n'a pas pu être effectuée; car, sous l'action de l'acide sulfurique très dilué, la lactosazone se transforme en anhydride et ne se dédouble pas, tandis que sous l'action des acides plus concentrés, la phénylhydrazine de l'osazone est détruite avant que l'hydrolyse se porte sur le point d'union des deux sucres.

Cette hydrolyse de la lactosazone, qu'on n'a pas pu obtenir par les acides, nous l'avons obtenue, comme on le verra, par une action diastasique.

On prépare la lactosazone dans le but de la soumettre à l'action du suc d'*Helix*, en chauffant pendant 1 h. 1/2 au bain-marie à l'ébullition, une solution de lactose pur, avec un excès de phénylhydrazine acétique. La lactosazone cristallise par refroidissement du liquide; on la recueille et on l'essore à la trompe; ensuite on la fait recristalliser deux fois, après l'avoir dissoute dans l'eau bouillante; on la recueille sur un filtre et on la lave avec une grande quantité d'eau froide.

La lactosazone ainsi lavée était essorée à la trompe et puis, soit desséchée à l'étuve à la température de 40°, soit mise en suspension dans de l'eau distillée.

L'une et l'autre de ces préparations sont attaquées par le suc d'*Helix pomatia*.

Voici un exemple de cette action, avec les détails de l'expérience. On fait les deux mélanges suivants :

a) lactosazone 2 gr. + eau distillée 30^{cc} + suc d'*Helix* 10^{cc}

b) lactosazone 2 gr. + eau distillée 30^{cc} + suc bouilli d'*Helix* 10^{cc}

On ajoute aux deux mélanges, quelques gouttes de chloroforme et de toluol comme antiseptique. Après quatre jours de contact à l'étuve, à la température de 37°-39°, on filtre les deux liquides en s'aidant du vide. On recueille ainsi environ 35^{cc} de liquide par flacon. Le filtrat *a* est jaune foncé tandis que *b* est jaune-clair. La substance restée sur le filtre est soigneusement recueillie, car elle servira, comme nous le verrons, à la recherche de la glucosazone.

Pour voir si les filtrats ne contiennent pas d'osones, nous avons opéré selon la méthode de Fischer. Les filtrats sont débarrassés des albuminoïdes, en les chauffant quelques instants à la température d'ébullition, après les avoir additionnés de quelques gouttes d'acide acétique. Après filtration, les liquides sont complètement refroidis et on les additionne de phénylhydrazine acétique ; ensuite on les laisse à la température du laboratoire pendant six heures. On constate qu'il ne s'est formé aucun dépôt d'osazone, ce qui exclue la possibilité de la

présence d'osones dans nos filtrats, les osones se combinant instantanément, à froid, à la phénylhydrazine pour former des osazones. Les liquides sont portés au bain-marie bouillant; après 1 heure et demie il y a dans le liquide *a* et dans *a* seulement, un dépôt solide qu'on reconnaît au microscope être formé par une osazone ayant la forme cristalline caractéristique de la galactosazone.

Cette osazone est insoluble à chaud. Purifiée successivement par l'eau chaude, l'acétone étendue de son volume d'eau et l'alcool méthylique, on la dessèche complètement à l'étuve à 40°. Ensuite on prend son point de fusion instantané au bloc Maquenne, en opérant comparativement avec de la galactosazone pure obtenue avec du galactose. L'une et l'autre fondaient à 212°-214°. D'autre part, notre osazone dissoute dans de l'acide acétique, était dépourvue de pouvoir rotatoire. C'était donc bien de la galactosazone.

Cette galactosazone ne peut provenir que du galactose, mis en liberté, dans le dédoublement de la lactosazone sous l'action du suc d'*Helix*. Le glucose ne se trouvant pas libre comme produit de dédoublement, il était naturel de penser qu'il était resté combiné à la phénylhydrazine, sous forme d'osazone. On ne trouve pas de glucosazone *cristallisée* dans les produits de

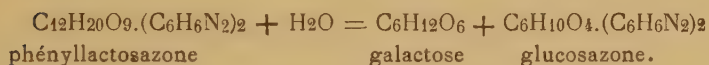
dédoublément de la lactosazone. En examinant sous le microscope des cristaux de lactosazone baignés dans du suc d'Helix, on observe qu'ils changent d'aspect ; ils se liquéfient partiellement et se transforment en une substance amorphe et gélatineuse, qui est formée par de la glucosazone. Pour caractériser cette dernière, nous avons recueilli la substance gélatineuse restant sur le filtre lors de la filtration du liquide *a* et nous l'avons traitée par l'acétone étendue de son volume d'eau, afin de dissoudre la lactosazone qui n'a pas été attaquée. Le résidu est épuisé par l'alcool éthylique à 96°, qui dissout la glucosazone et la débarrasse en même temps des albuminoïdes.

En évaporant cet extrait alcoolique, on obtient un résidu qui est formé par de la glucosazone, ainsi que le témoignent son point de fusion et son insolubilité dans l'eau chaude. On peut aussi la faire cristalliser dans l'alcool. Cette mise en évidence de la glucosazone, est toutefois assez délicate, à cause de sa solubilité dans la lactosazone ; aussi faut-il qu'il y en ait un grand excès pour pouvoir l'isoler. Dans toutes nos expériences sur le dédoublement de la lactosazone par le suc d'Helix, nous avons pu caractériser le galactose dans le filtrat, tandis qu'il nous a été plusieurs fois impossible de ca-

ractériser la glucosazone dans la masse gélatineuse restée sur le filtre.

On voit de ce qui précède, que la lactosazone est hydrolysée par le suc d'Helix, en donnant du galactose et de la glucosazone. C'est une nouvelle preuve que le lactose doit sa fonction aldéhydique au reste de glucose et que c'est à ce reste que la phénylhydrazine s'attache lors de la formation d'osazone.

On peut représenter l'hydrolyse de la lactosazone, par le suc d'Helix, par la formule suivante :



Il nous reste à nous poser la question suivante : A quel ferment attribuer le dédoublement de la lactosazone ? Il semble le plus naturel de l'attribuer à la lactase, qui est présente, nous l'avons vu, dans le suc d'Helix, la lactosazone étant un dérivé du lactose. Mais, fait curieux, la lactase de Mammifères, celle de fœtus de Veau par exemple, qui dédouble très énergiquement le lactose est *inactive envers la lactosazone*.

Nous verrons plus loin, qu'on trouve un fait semblable en ce qui concerne la maltosazone : dédoublée par le suc d'Helix, elle ne l'est pas par la maltase pancréatique.

CHAPITRE VI

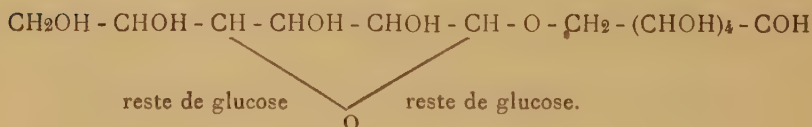
Dédoublément diastasique du maltose, de l'acide maltobionique et de la phénylmaltosazone

I. — LE MALTOSE

Nous n'insisterons pas sur les détails de nos recherches de la maltase. La maltase est un ferment extrêmement répandu chez les animaux. Nous l'avons trouvé, accompagnant l'amylase, dans tous les sucs digestifs de Mollusques et de Crustacés ; l'amidon est transformé par ces sucs en glucose, en passant par le maltose comme stade transitoire. Lorsque les sucs sont alcalins, le stade maltose est plus prolongé que lorsqu'ils sont neutres ou acides ; dans ce dernier cas le stade maltase est difficile à saisir. On retrouve le même fait que Bierry et

Terroine (1) ont signalé pour la maltase pancréatique, qui n'est que très peu active en milieu alcalin ; le suc pancréatique, qui est fortement alcalin, transforme vite l'amidon jusqu'au stade maltose, mais très lentement jusqu'au stade glucose. Le sucre pancréatique légèrement acidifié par l'acide acétique, transforme par contre l'amidon rapidement en glucose.

La technique employée pour caractériser une hydrolyse du maltose est en tout semblable à celle employée pour le lactose. Ces deux sucres ont une grande analogie ; ils sont réducteurs et donnent avec la phénylhydrazine une osazone soluble à chaud. Mais tandis que le lactose donne par hydrolyse une molécule de glucose et une de galactose, le maltose donne deux molécules de glucose. Fischer (2) lui attribue une structure semblable à celle du lactose :



L'hydrolyse du maltose est suivie d'une augmentation du pouvoir réducteur et d'une diminution du pouvoir

(1) BERRY et TERROINE. *Le suc pancréatique de sécrétine contient-il de la maltase*. C. R. Soc. Biologie. LVII, I 1985, 869.

(2) EM. FISCHER. Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme I. Ber. d. d. chem. Gesell 27, 1894, 2985.

rotatoire ; ces propriétés et celle de donner une osazone entièrement soluble à chaud, servent à mettre en évidence le degré d'hydrolyse.

On sait qu'il y a dans le pancréas et dans l'intestin des animaux supérieurs, un ferment hydrolysant le maltose ; un pareil ferment existe aussi dans le sang. Dastre et Bourquelot (1) ont montré que le maltose injecté dans le sang ne se retrouve qu'en faibles proportions dans l'urine ; il est cependant consommé moins facilement que le glucose. Cette utilisation du maltose s'explique par le fait que le sang contient de la maltase. L'*Aspergillus niger*, d'après Bourquelot (2) hydrolyse le maltose avant de l'utiliser.

Nous avons voulu voir si on ne rencontre pas chez certains animaux de l'amylase sans maltase, ce qui serait un fait favorable à l'assimilation directe du maltose. Nos recherches ont porté sur les Mollusques, les Crustacés, les Echinodermes, les Poissons et les Amphibiens. En aucun cas, en opérant avec les sucs digestifs et les extraits de différents organes, nous n'avons obtenu une hydrolyse de l'amidon s'arrêtant au stade mal-

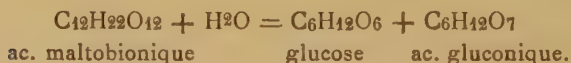
(1) A. DASTRE et EM. BOURQUELOT. *De l'assimilation du maltose*. Comp. rendus Acad. des Sciences 98, 1884, 1604.

(2) EM. BOURQUELOT. *Recherches sur les propriétés physiologiques du maltose*. Comp. rendus Acad. Sciences 97, 1883, 1000 et 1322.

tose ; toutes les fois l'amidon a été transformé en glucose, en passant par le stade transitoire de maltose.

II. — L'ACIDE MALTOBIONIQUE

L'acide maltobionique est au maltose exactement ce qu'est l'acide lactobionique au lactose. Fischer et Meyer (1) l'ont obtenu en oxydant le maltose à froid par l'eau bromée. Ses propriétés sont celles de l'acide lactobionique ; c'est une masse sirupeuse très acide, non réductrice, très soluble dans l'eau et se combinant aux bases pour donner des sels. Sous l'action des acides minéraux dilués et chauds, l'acide maltobionique est hydrolysé en glucose et acide gluconique :



Nous avons préparé l'acide maltobionique de la même façon que l'acide lactobionique, suivant les indications de Fischer et Meyer, en excluant toutefois l'emploi d'acide acétique, et purifiant le produit, comme il a été

(1) EM. FISCHER und J. MEYER. *Oxydation der Maltose*. Ber d. d. chem. Gesell. 22, 1889, 1941.

dit à propos de l'acide lactobionique, par épuisements successifs par l'alcool à 80°.

On n'avait pas signalé jusqu'à présent de ferment attaquant l'acide maltobionique mais un corps voisin de celui-ci : la *maltozone*, qui est d'après Fischer et Armstrong (1) hydrolysée par l'extrait de levure, en glucose et glucosone.

L'acide maltobionique est hydrolysé par le suc digestif d'*Helix*, ainsi que le montre l'expérience suivante : On dissout 1 gr. de lactone maltobionique dans 30 cc. d'eau et on additionne la solution de 2 cc. de suc d'*Helix*. Après 16 heures de contact le liquide réduit fortement la liqueur de Fehling. On caractérise comme produits d'hydrolyse, le glucose par son osazone et l'acide gluconique par le gluconate de chaux. Le flacon témoin avec solution de lactone plus suc bouilli, n'accuse la présence d'aucune trace de sucre réducteur. Les sels de chaux et d'ammonium, de l'acide maltobionique, sont également hydrolysés par le suc d'*Helix*.

Il serait tout naturel d'attribuer l'hydrolyse diastasi-que de l'acide maltobionique au même ferment qui dédouble le maltose, c'est-à-dire à la maltase. Mais les

(1) EM. FISCHER und F. ARMSTRONG. Darstellung des Osone aus den Osazonen der Zucker. Ber. d. d. chem. Gesell. 35, 1992, 3141.

maltases des animaux supérieurs (maltase pancréatique et intestinale) sont inactives sur l'acide maltobionique : quelquefois seulement, après un contact prolongé, on voit apparaître des traces de sucre réducteur qui n'augmentent pas sensiblement avec la durée du contact ; il est peu probable qu'il s'agit d'une action diastasique. On doit donc admettre ou bien que la maltase d'*Helix* et la maltase des animaux supérieurs sont différentes l'une de l'autre, ou bien qu'il existe dans le suc d'*Helix* un ferment distinct de la maltase : une *maltobionase*. Il n'y a actuellement aucune raison pour préférer l'une de ces deux hypothèses.

III. — LA PHÉNYLMALTOSAZONE

La phénylmaltosazone, résultant de la combinaison du maltose avec la phénylhydrazine sous l'action de la chaleur, est un isomère de la lactosazone ; de même que celle-ci, elle est entièrement soluble dans l'eau chaude ; traitée par l'acide chlorhydrique fumant ou l'aldéhyde benzoïque, elle perd ses deux restes de phénylhydrazine et se transforme en osone (1) ; cette osone se dédouble sous l'action des acides chauds en glucose et glucosone.

(1) EM. FISCHER und E.-F. ARMSTRONG, *loc. cit.*

L'osazone du maltose a une structure semblable à celle du lactose. Dans les deux cas la phénylhydrazine est attachée à l'extrémité aldéhydique de la chaîne du biose. On n'avait pas réussi jusqu'à présent à hydrolyser la maltosazone d'une façon semblable au maltose ; car, de même que pour l'osazone du lactose, sous l'action des acides, les restes de phénylhydrazine se détruisent avant que l'action se porte sur le point voulu de la chaîne. Cette hydrolyse, nous l'avons obtenue par un agent diastasique.

On prépare la maltosazone de la façon suivante : on chauffe au bain-marie bouillant, pendant une heure et demie, une solution de maltose avec de la phénylhydrazine acétique en quantité correspondant à la teneur en sucre. La maltosazone cristallise par refroidissement du liquide. On l'essore sur un filtre Buchner. On la fait recristalliser deux fois de sa solution chaude, et finalement on la lave avec une grande quantité d'eau distillée pour la débarrasser complètement de phénylhydrazine non combinée. La maltosazone ainsi purifiée est desséchée et mise en poudre.

Elle est attaquée par un ferment contenu dans le suc d'*Helix*, ainsi que le montre l'expérience suivante prise parmi de nombreuses expériences qui ont toutes donné des résultats semblables.

On fait les deux mélanges :

- a) Maltosazone 2 gr. + eau distillée 35^{cc} + suc d'Helix 10^{cc}
b) Maltosazone 2 gr. + eau distillée 35^{cc} + suc bouilli d'Helix 10^{cc}

Antiseptiques, toluol et chloroforme. On laisse les mélanges 5 jours à l'étuve à 37-39°, en les agitant de temps en temps. On les filtre sur filtre Buchner, on additionne les filtrats de phénylhydrazine acétique et on les porte au bain-marie bouillant. Il s'est formé à chaud dans *a* seulement, une osazone ayant la forme caractéristique de la glucosazone. Recueillie sur un filtre, elle a été lavée successivement à l'eau chaude, à l'acétone étendue de son volume d'eau, à l'alcool méthylique, et puis elle a été desséchée à l'étuve; au bloc Maquenne elle avait le point de fusion instantanée, entre 230-231°. C'était donc de la glucozazone.

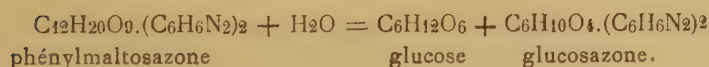
4. Le liquide provenant de *b* ne donne aucune formation d'osazone. Aucun des deux filtrats ne contenait d'osones, car, laissés en contact avec de la phénylhydrazine acétique pendant plusieurs heures à la température ordinaire, il ne s'est pas formé d'osazones.

Ayant constaté la production de glucose aux dépens de la maltosazone, il était tout naturel de supposer que le dédoublement de celle-ci avait dû se faire en glucose et glucosazone. Nous avons recherché cette dernière

dans la masse gélatineuse restée sur le filtre lors de la filtration des liquides *a* et *b*.

Dans ce but nous avons opéré exactement de la même façon que nous avons décrite à propos de l'hydrolyse de la lactosazone. On traite la masse gélatineuse par l'acétone étendue de son volume d'eau, pour la débarrasser de la maltosazone non attaquée. Le résidu est épuisé par l'alcool éthylique à 96° afin de dissoudre la glucosazone si elle est présente. L'extrait alcoolique est évaporé au bain-marie ; on obtient ainsi pour l'extrait provenant de *a* un résidu jaunâtre ayant le point de fusion de la glucosazone et étant presque complètement insoluble dans l'eau bouillante. L'extrait *b* ne donne qu'un résidu insignifiant.

En somme, la phénylmaltosazone est dédoublée d'une façon semblable à la lactosazone, par un ferment du suc d'Helix. Ce dédoublement se fait en glucose et en glucosazone :



Ce ferment du suc d'Helix, est-ce la maltase ou un autre ferment ? Nous nous sommes posé la même question à propos de l'acide maltobionique. De même que ce dernier, la maltosazone n'est pas attaquée par la mal-

tase des animaux supérieurs (maltase pancréatique et intestinale). On retrouve donc le même fait que nous avons constaté pour le lactose et ses dérivés, l'acide lactobionique et la lactosazone ; en effet, aucun de ces deux dérivés du lactose n'est attaqué par la lactase des Mammifères, tandis que le suc d'*Helix* les attaque tous les deux.

En attribuant l'hydrolyse du maltose, de l'acide maltobionique et de la maltosazone, à la maltase d'*Helix*, et l'hydrolyse du lactose et de ses dérivés, l'acide lactobionique et la lactosazone, à la lactase d'*Helix*, on doit considérer la maltase et la lactase de Mammifères comme ayant une spécificité plus prononcée que ces ferments de Mollusques. Cependant, la lactase de Mammifères ne limite pas son action uniquement sur le lactose, car, d'après H. Bierry et A. Ranc (1), elle hydrolyse aussi le lactose-uréide, ce que fait aussi la lactase d'*Helix*.

(1) H. BIERRY et ALBERT RANC. *Dédoublément du lactose et de ses dérivés par les lactases animales*. I. — Lactose-urée. *Comp. rend. Soc. Biol.* LXVI, 1909, 522.

CHAPITRE VII

Hydrolyses diastasiques du saccharose et du raffinose

1. — LE RAFFINOSE, LE MÉLIBIOSE ET LE SACCHAROSE

En 1876, Loiseau a retiré des mélasses de sucreries un hydrate de carbone possédant un fort pouvoir rotatoire dextrogyre, qu'il nomma *raffinose*. La composition de ce sucre fut déterminée par les recherches de Gans, Haëdike et Tollens. On reconnut aussi (Tollens, Rischieth) que le mélitose, sucre isolé auparavant des mannes d'Eucalyptes d'Australie par Berthelot, et signalé déjà en 1843 par Johnston, était identique au raffinose; cependant Berthelot considère son mélitose comme une combinaison du raffinose à l'eucalyne. Le *gossypose*, sucre isolé des tourteaux de coton, par Ritthausen et

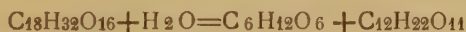
Böhm, fut identifié au raffinose, par Tollens. Le raffinose a été retrouvé dans la betterave par Lippmann et par Tollens, ce qui prouve que ce sucre n'est pas un produit se formant au cours du traitement de la betterave par la strontiane ou la chaux. Le raffinose semble être très répandu dans la nature. D'après Scheibler on le rencontre dans de nombreuses plantes. Les graines telles que celles de l'Orge, de Soja et de quelques Conifères, en contiennent également.

Le raffinose est un triose non réducteur. Sous l'action des acides minéraux, à chaud, il donne comme produits de son hydrolyse complète, du galactose, du glucose et du lévulose, d'après l'équation suivante :



Loiseau a montré que le raffinose chauffé avec des acides dilués se transforme en sucres réducteurs, en même temps que le pouvoir rotatoire dextrogyre diminue. L'inversion du raffinose n'est pas aussi simple que celle du saccharose, ainsi que Pellet et Biard le firent remarquer. En chauffant le raffinose dont le pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$ est égal à $+104^\circ$, avec des acides dilués, on obtient une formation de sucres réducteurs dont l'ensemble possède un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$ égal à $+53^\circ$ environ. C'est l'inversion faible du raffinose ; ce triose

s'est transformé en lévulose et en un biose, le *mélibiose*. Si on pousse l'hydrolyse jusqu'au bout en employant des acides plus concentrés, le raffinose produit des sucres réducteurs dont l'ensemble a un pouvoir rotatoire α_D égal à environ $+ 20^\circ$. Cette hydrolyse correspond à l'*inversion forte* du raffinose, qui donne un mélange à parties égales de lévulose, glucose et galactose, ces deux derniers sucres étant unis sous forme de mélibiose lors de l'inversion faible. Ainsi, en chauffant pendant une heure à 80° , 60 gr. de raffinose avec 540 gr. d'eau contenant 6 gr. d'acide sulfurique, on obtient un dédoublement du raffinose en lévulose et mélibiose, qui peut être représenté par la formule suivante :



Si on continue l'hydrolyse on obtient une inversion du mélibiose, qui produit du galactose et du glucose. En somme, on peut, avec une même quantité d'acide, obtenir une inversion faible ou une inversion forte du raffinose, suivant la durée et la température de l'hydrolyse.

Cependant, par un chauffage prolongé avec les acides dilués, le raffinose se détruit en produisant des substances humiques, de l'acide formique et de l'acide lévulinique.

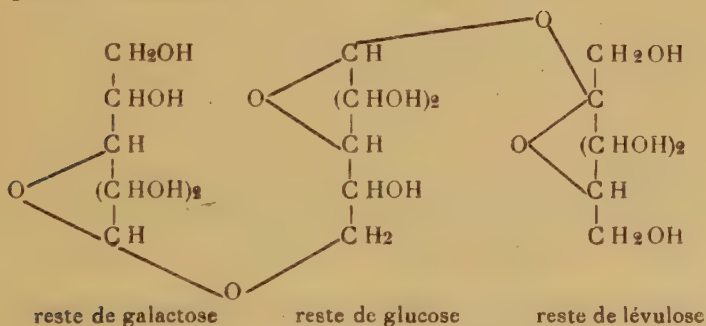
Le raffinose n'est pas réducteur et ne se combine pas à la phénylhydrazine ; il ne doit donc pas avoir de fonction aldéhydique libre. Par contre, le mélibiose provenant du raffinose par détachement d'une molécule de lévulose, possède les propriétés caractéristiques d'un sucre à fonction aldéhydique libre : il est réducteur et il s'unit à chaud à la phénylhydrazine pour donner une osazone soluble à chaud.

Le mélibiose est formé de l'union d'une molécule de glucose à une molécule de galactose. Scheibler et Mittelmeier ont été les premiers à donner une preuve que c'est au glucose qu'appartient la fonction aldéhydique du mélibiose. En réduisant le mélibiose par l'amalgame de sodium, ils ont obtenu la *mélibiotite*, corps du genre de la mannite, non réducteur et donnant par hydrolyse du galactose et de la mannite ; cela montre que la fonction aldéhydique du mélibiose appartient au reste de glucose qui a été transformé en reste de mannite dans la mélibiotite, et que c'est, d'autre part, le reste de glucose qui occupe la position centrale dans la molécule du raffinose.

Une seconde preuve d'une telle constitution du raffinose a été trouvée par Fischer dans l'hydrolyse de la mélibiosone, de même qu'il l'avait fait pour le lactose et le maltose à l'aide de leurs osones. En chauffant pen-

gant un certain temps avec de l'aldéhyde benzoïque une solution aqueuse de mélibiosazone, celle-ci perd ses restes de phénylhydrazine et se transforme en *mélibiosone*. Or, la mélibiosone, hydrolysée par les acides, fournit du galactose et de la *glucosone*, ce qui prouve que la phénylhydrazine était attachée au reste de glucose et que c'est à celui-ci qu'appartient la fonction aldéhydique du mélibiose. On obtient, d'après Fischer, le même dédoublement de la mélibiosone sous l'action de l'émulsine ou de la levure basse.

Scheibler et Mittelmeier proposent la formule suivante pour le raffinose :



Dans laquelle le lévulose est lié au glucose de la même façon que dans le saccharose, et le glucose au galactose de la même façon que dans le lactose. Cependant, la lactase de Mammifères, qui dédouble le lactose, est sans action sur le mélibiose ; d'autre part, il y a des

invertines qui sont incapables de détacher le lévulose de la molécule du raffinose. Il est donc peu probable que les trois sucres constituant le raffinose soient liés entre eux de la même façon qu'ils le sont dans le lactose, d'une part, et dans le saccharose d'autre part. La formule de Scheibler et Mittelmeier ne représente donc pas, en ce qui concerne le mode d'union de ces trois sucres, la véritable structure du raffinose. De plus, d'après cette formule, le raffinose ne pourrait se combiner qu'à 11 molécules d'acide acétique pour donner le raffinose endécacétique $C_{18}H_{21}O_5 (C_2H_3O_2)_{11}$. Or, Tanret (1) a obtenu une combinaison dodécacétique :



II. — LES FERMENTS HYDROLYSANT LE RAFFINOSE ET LE SACCHAROSE

Nous avons vu que l'hydrolyse du raffinose par les acides pouvait se faire de deux façons. Dans un cas, il y a formation de lévulose et de mélibiose : c'est l'inversion faible ; dans l'autre cas, il y a formation de lévulose, glucose et galactose : c'est l'inversion forte.

(1) TANRET. Bull. Soc. chim. (3), 13, 261.

On peut obtenir par des agents diastasiques ces mêmes hydrolyses du raffinose et en plus un mode qui n'a pas été obtenu à l'aide des acides : c'est le détachement du galactose de la chaîne du raffinose, avec production d'un biose du genre du saccharose, donnant comme ce dernier du glucose et du lévulose par hydrolyse (Neuberg).

Le raffinose fermente facilement sous l'influence de cultures pures de levures basses. Il se produit ainsi environ 40 % d'alcool. La plupart des levures hautes ne fournissent que 18 % d'alcool et, dans ce cas, l'alcool est fourni uniquement aux dépens du lévulose détaché de la chaîne du raffinose. Cette différence d'action des levures tient à ce que les unes contiennent les deux ferments nécessaires à l'hydrolyse complète du raffinose, tandis que d'autres ne possèdent que le ferment détachant le lévulose et n'attaquent pas le mélibiose. Fischer et Lindner (1), et Bauer (2), ont montré que, contrairement à ce que pensaient Scheibler et Mittelmeier, l'invertine de levure était incapable de produire une hydrolyse complète du raffinose. Son action se borne à détacher la molécule de lévulose. Le mélibiose n'est pas attaqué par l'invertine car, les levures hautes,

(1) E. FISCHER und P. LINDNER. Ueber die Enzyme einiger Hefen. Ber. d. d. chem. Gesell. 28, 1895, 3034.

(2) BAUER. Chemikerzeitung, 1895.

telles celles du type Saaz et Froberg, n'attaquent pas le mélibiose, tout en attaquant le saccharose. Le dédoublement du mélibiose serait attribuable à un autre ferment, la *mélibiase*, contenue dans les levures basses qui, précisément, font complètement fermenter le raffinose.

D'après Bourquelot (1), le liquide fermentaire d'*Aspergillus niger*, hydrolyse le raffinose. Cette hydrolyse, au bout de 7 jours, est allée un peu plus loin que le stade correspondant à l'inversion faible. Cet auteur a obtenu la même chose avec la levure des boulangers et avec une levure basse.

L'émulsine d'amandes d'après Fischer hydrolyse le mélibiose, tandis que la lactase du kéfir n'attaque pas ce sucre. En faisant agir de l'émulsine végétale purifiée, sur le raffinose, Neuberg (2) a récemment obtenu une hydrolyse du raffinose qui n'avait pas encore été signalée. Cette action de l'émulsine consiste en un détachement de galactose de la molécule de raffinose. Il en résulte un biose non réducteur du genre du saccharose, donnant comme celui-ci du glucose et du lévulose par hydrolyse. D'après cela, Neuberg considère le raffinose comme étant un galactoside du saccharose ou un fructoside du mélibiose.

(1) EM. BOURQUELOT. *Sur l'hydrolyse du raffinose (mélitose) par les ferments solubles*. Journ. de pharm. et chim. 3 [6] 1896, 390.

(2) NEUBERG. *Zeitschr. d. Ver. d. d. Zucker Industrie* 1907.

En somme l'hydrolyse diastasique du raffinose peut se faire de trois façons distinctes. Le raffinose peut être dédoublé 1° en lévulose, glucose et galactose, 2° en lévulose et mélibiose, 3° en galactose et en un biose formé de glucose et de lévulose (saccharose?). Deux agents diastatiques interviennent dans ces différents modes d'hydrolyse. Le détachement du lévulose a été attribué à l'invertine de levure, ferment hydrolysant le saccharose et dont l'action se porte dans les deux cas sur le point d'union d'un reste de glucose à un reste de lévulose. Cependant on connaît à présent des invertines qui sont sans aucune action sur le raffinose. Ainsi Pautz et Vogel ont montré que la muqueuse d'intestin grêle de Chien, possédant la propriété d'hydrolyser le saccharose est sans aucune action envers le raffinose. De même Fischer et Niebel n'ont obtenu que des résultats négatifs en essayant de provoquer une hydrolyse du raffinose par différents liquides organiques et par des extraits d'organes, quoique plusieurs de ces extraits possédaient la propriété d'hydrolyser le saccharose (1).

(1) Leurs expériences ont été faites avec le sérum du sang de : Cheval, Bœuf, Mouton, Oie, Poulet, Carpe, Anguille, Tanche ; avec des macérations de muqueuse stomacale de Cheval et de muqueuse de caillette de Bœuf ; avec les macérations d'intestin grêle de Bœuf, Veau, Cheval, Mouton et d'intestin de Couleuvre ; avec les macérations de pancréas de Bœuf et de Cheval, et les macérations de testicules de Taureau et de glande thyroïde de Cheval ; avec la bile de Bœuf et de Porc.

Le dédoublement du mélibiose est provoqué par un ferment contenu dans les levures basses ; d'après Bau ce ferment serait distinct des autres ferments connus, il s'agirait donc d'une *mélibiase*. Mais d'autre part nous avons vu que l'émulsine d'amandes attaque aussi le mélibiose, de même qu'elle détache le galactose de la molécule du raffinose. Cette action de l'émulsine est-elle attribuable au même agent diastasique contenu dans cette substance et qui hydrolyse le lactose ? Il est peu probable, car la lactase du kéfir est inactive envers le mélibiose, comme l'a montré Em. Fischer. Est-elle attribuable au ferment hydrolysant les glucosides tels que l'amygdaline et la salicine, c'est-à-dire à l'émulsine proprement dite ou à une *mélibiase* contenue dans l'émulsine ? Ce sont autant de questions qui demandent à être solutionnées.

III. — RECHERCHE DES FERMENTS DU RAFFINOSE ET DU SACCHAROSE CHEZ LES MOLLUSQUES ET CHEZ LES CRUSTACÉS

Nous avons trouvé chez les Mollusques et les Crustacés, des ferments hydrolysant le raffinose. Nous

avons été ainsi avec Bierry (1) les premiers à signaler chez les animaux un dédoublement diastasique du raffinose, tous les essais faits auparavant dans cette voie ayant donné comme nous l'avons vu, des résultats absolument négatifs. Tout récemment seulement, Straus (2) a signalé un dédoublement diastasique du raffinose par des extraits d'Insectes et de leurs larves.

On attribue à l'invertine le premier stade de dédoublement du raffinose avec mise en liberté de levulose; mais, comme nous l'avons vu, de nombreuses invertines sont incapables d'opérer cette hydrolyse. C'est pourquoi dans nos expériences nous avons toujours opéré sur le raffinose et le saccharose comparativement, pour voir si toutes les fois que le saccharose est attaqué il en était de même avec le raffinose. C'est là, à notre avis, le principal intérêt de ce Chapitre, et c'est pour cette raison que nous y avons réuni le raffinose et le saccharose.

Nous nous sommes servi, dans nos expériences, de raffinose purifié par plusieurs cristallisations successives de ses solutions aqueuses. Nous avons ainsi obtenu un

(1) BIERRY et GIAJA. *Digestion des glucosides et des hydrates de carbone chez les Mollusques terrestres*. Compt. rend. Soc. Biol. LXI, 1906, 485.

(2) STRAUS Ueber des Vorkommen einiger Kohlenhydratfermente bei Lepidopteren und Dipteren. Zeitschr. f. Biol, 52, 1909.

produit qui desséché à l'étuve à 40° avait un pouvoir rotatoire :

$$[\alpha]_D = \frac{+18,33^\circ \times 50^{cc}}{4,4^{gr.} \times 2^{dm.}} = +104,1^\circ$$

Ce produit était un hydrate du raffinose à 5 molécules d'eau. En effet en le déshydratant avec les précautions indiquées par Bourquelot (1) il perd environ 15 p. 100 de son poids d'eau, ce qui équivaut à 5 H²O par molécule de raffinose.

On peut suivre et déterminer le mode et le degré d'hydrolyse du raffinose par les variations du pouvoir rotatoire et du pouvoir réducteur. On sait que l'hydrolyse du raffinose est suivie d'une diminution du pouvoir rotatoire et de l'apparition du pouvoir réducteur.

Le pouvoir rotatoire du raffinose $[\alpha]_D = +104^\circ$ environ, tombe à environ $+53^\circ$ lorsque le raffinose a subi l'inversion faible, c'est-à-dire lorsqu'il a été hydrolysé en lévulose et mélibiose. Il tombe à environ $+20^\circ$ lorsque le raffinose a subi l'inversion forte. Le pouvoir réducteur, qui est nul pour le raffinose, est déjà considérable au stade inversion faible, le mélibiose ayant un pouvoir réducteur un peu inférieur à celui du maltose. Ce pouvoir réducteur augmente environ de la moitié lors

(1) BOURQUELOT, *loc. cit.*

du passage du stade inversion faible au stade inversion forte. Enfin, on peut caractériser les sucres produits par l'hydrolyse du raffinose. Dans le cas d'inversion faible, le lévulose donne de la glucosazone qu'on peut facilement séparer de la mélibiosazone, la première étant insoluble dans l'eau chaude et la seconde s'y dissolvant au contraire facilement. La phénylmélibiosazone purifiée fond à la température de 178-179°. Dans le cas d'inversion forte du raffinose, on n'obtient pas de mélibiosazone soluble à chaud lorsqu'on chauffe le liquide sucré avec un excès de phénylhydrazine.

Helix pomatia L. — Le suc d'*Helix* hydrolyse complètement le raffinose ; hydrolyse correspondant à l'inversion forte, ainsi qu'on le verra de l'expérience suivante :

On dissout 3^{gr}.52 de raffinose hydraté à 5 H²O, dans un peu d'eau distillée. On porte la solution à l'ébullition ; après refroidissement, on l'additionne de 3^{cc} de suc d'*Helix* et on complète à 88^{cc} par de l'eau distillée. On fait pour contrôler l'expérience, un flacon témoin avec suc bouilli et un autre avec suc plus eau distillée.

On additionne les mélanges de toluol et de thymol et on les place à l'étuve à la température de 37-39°. Au bout de 24 heures, on fait une première prise de 2^{cc} de liquide pour y doser le pouvoir réducteur ; on refait une

nouvelle prise 24 heures plus tard et ainsi de suite jusqu'à ce que le pouvoir réducteur soit devenu constant. Nous avons obtenu les chiffres suivants qui expriment les quantités de cuivre réduit, en milligrammes, par 2^{cc} du liquide sucré.

24 heures.....	64 ^{mgr.} Cu
2 jours	100
3 jours	106
4 jours	111
5 jours	114
9 jours	123
12 jours	127
16 jours	127
19 jours	127

A partir du 12^{me} jour le pouvoir réducteur n'a plus varié, même après addition le 16^{me} jour d'une nouvelle quantité de suc d'Helix.

Si nous représentons graphiquement les variations du pouvoir réducteur au cours de cette expérience, en fonction du temps, on obtient la courbe représentée par la fig. 3. Les quantités de cuivre réduit par 2^{cc} du liquide sucré, sont portées en ordonnée, le temps en jour est porté en abscisse.

Dans cette expérience nous avons employé une solution contenant 3^{gr.} 52 d'hydrate de raffinose dans 88^{cc}. Cette quantité d'hydrate correspond à 2^{gr.} 98 de raffinose

anhydre. C'est-à-dire que 2^{cc} de notre solution contenaient 0^{gr}.067 de raffinose anhydre. En supposant que le raffinose ait subi l'inversion forte, 2^{cc} de liquide contiendraient 0^{gr}.023 de glucose, la même quantité de lévulose et de galactose.

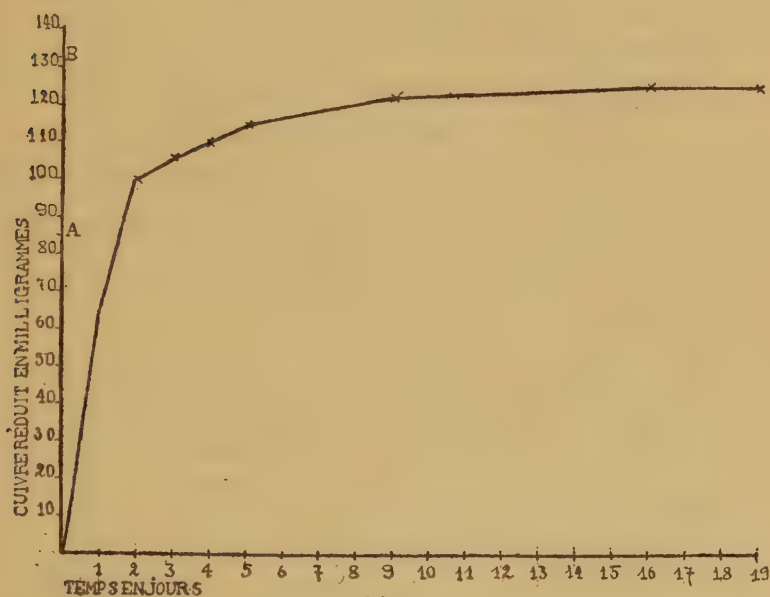


Fig. 3

Ce mélange réduirait, d'après les tables de G. Bertrand, 131^{mgr.} de cuivre. Or, notre liquide, lorsque le pouvoir réducteur est devenu constant, en réduisait 127^{mgr.} On voit donc que, d'après le pouvoir réducteur, le raffinose aurait subi une inversion forte.

Nous en avons une autre preuve dans le pouvoir rotatoire. Après avoir défequé le liquide par une petite quantité de nitrate mercurique on observe au polarimètre une déviation $\alpha = + 1,63^\circ$ d'où

$$[\alpha]_D = \frac{1,63^\circ \times 88^\circ}{387,52 \times 2^{dm.}} = + 20,4^\circ$$

C'est précisément le pouvoir rotatoire du mélange des trois sucres provenant d'une hydrolyse complète du raffinose. Ensuite, notre liquide chauffé avec un excès de phénylhydrazine acétique n'a pas donné de mélibiosazones se formant par refroidissement et se redissolvant à chaud.

On a obtenu à chaud la formation d'un mélange de glucosazone et de galactosazone. Pour nous assurer si notre liquide ne contenait plus de sucre hydrolysable, nous en avons additionné 50^{cc} de 0^{cc}5 de H²SO⁴ et nous avons porté à la température de 105° pendant une heure. Après refroidissement et neutralisation du liquide on constate que le pouvoir réducteur n'a pas changé. Nous pouvons donc, d'après ce qui précède, en conclure que le suc d'*Helix* a hydrolysé complètement le raffinose, hydrolyse correspondant à l'inversion forte par les acides.

La courbe représentant les variations du pouvoir

réducteur, présente deux parties bien distinctes. Au début elle monte brusquement puis elle s'infléchit brusquement vers l'abscisse et continue ainsi sa marche presque en ligne droite. Ces deux parties de la courbe correspondent aux deux stades par lesquels passe l'hydrolyse du raffinose. En effet, on peut facilement calculer quel est le pouvoir réducteur des produits résultant d'une inversion faible du raffinose. Ainsi, 2^{cc} de solution de raffinose avec laquelle a été menée cette expérience, auraient fourni par inversion faible 0,023 de lévulose et 0,043 de mélibiose; cette quantité de mélibiose réduit, d'après la formule de Bau, 45^{mgr} de cuivre et le lévulose en réduit 42,5^{mgr}, c'est-à-dire en tout 87,5^{mgr} de Cu. Si nous portons cette quantité de cuivre sur l'ordonnée nous obtenons le point A qui se trouve dans la région où la courbe subit l'inflexion brusque. Si on arrête l'hydrolyse à ce moment là, le pouvoir rotatoire du liquide est d'environ + 50° et d'autre part on obtient par la phénylhydrazine à chaud un mélange de glucosazone et de mélibiosazone que nous avons isolée, purifiée et caractérisée par leur point de fusion. A ce moment là donc, le raffinose était au stade d'inversion faible. On voit d'après l'allure de la courbe que le détachement du lévulose se fait bien plus facilement que l'hydrolyse du

mélibiose, et que l'hydrolyse diastasique du raffinose par le suc d'Helix se fait en réalité en deux temps : dans le premier temps il y a formation de lévulose et de mélibiose, dans le second hydrolyse du mélibiose en glucose et en galactose.

Le suc d'Helix qui hydrolyse, comme nous venons de le voir, le raffinose, est aussi actif envers le saccharose, ainsi que l'ont montré Biedermann et Moritz.

L'hydrolyse de ce dernier sucre se fait beaucoup plus vite que celle du raffinose, ainsi que le montre l'expérience suivante.

On fait les deux mélanges :

saccharose . . .	0 gr. 50		raffinose . . .	0 gr. 50
eau.	26 ^{cc}		eau	26 ^{cc}
suc d'Helix . . .	1 ^{cc}		suc d'Helix . . .	1 ^{cc}

Après 1 h. 25 de contact à la température de 37°-39° on dose le sucre réducteur formé dans les deux mélanges. On trouve ainsi que 0 gr. 50 de saccharose ont produit 0 gr. 321 de sucre interverti, tandis que le raffinose n'a subi qu'un commencement de dédoublement à en juger par le pouvoir réducteur du liquide, qui équivaut à 0 gr. 040 de glucose.

Helix aspersa MÜLL. — Le suc digestif de ce Mollusque se comporte d'une façon semblable à celui de H.

pomatia, envers le saccharose et le raffinose ; il hydrolyse ces deux sucres, le premier toutefois beaucoup plus facilement.

Arion rufus L. — On fait avec du suc digestif d'Arion l'expérience avec les mélanges suivants accompagnés de mélanges témoins avec suc bouilli et avec suc non bouilli plus eau distillée.

saccharose.	0 gr. 50		raffinose	0 gr. 50
eau.	30 ^{cc}		eau	30 ^{cc}
suc	1 ^{cc}		suc	1 ^{cc}

Après trois jours de contact à la température ordinaire on constate que le saccharose est entièrement interverti. Le raffinose est également hydrolysé, mais l'hydrolyse n'est pas complète ainsi que le témoigne le pouvoir rotatoire du liquide égal à 39° environ ; ce pouvoir rotatoire correspond à une hydrolyse du raffinose poussée plus loin que le stade lévulose-mélibiose, mais n'ayant pas encore atteint le stade lévulose-glucose-galactose.

En effet, le liquide porté au bain-marie pendant 1 h. 1/2 avec un excès de phénylhydrazine, produit une osazone à chaud qu'on recueille sur un filtre en filtrant le liquide bouillant. Dans le filtrat il se forme par refroidissement une osazone qui se redissout à chaud.

On se débarrasse de nouveau de la partie insoluble, par filtration ; le filtrat laisse déposer, par refroidissement, une osazone complètement soluble à chaud. Cette osazone recueillie sur un filtre et purifiée à l'eau froide et l'alcool méthylique, fondait instantanément au bloc Maquenne à 178°-179° ; c'était donc de la mélibiosazone.

En résumé, le suc d'Arion, de même que celui d'Helix, hydrolyse le raffinose. Cette hydrolyse se fait vite jusqu'au stade lévulose-mélibiose, après quoi le mélibiose subit probablement l'hydrolyse à son tour, mais plus lentement.

Aplysia punctata Cuv. — Le suc de ce Mollusque marin est actif envers le saccharose et absolument *inactif* envers le raffinose ; par contre, le suc digestif des Mollusques terrestres est actif, ainsi que nous l'avons vu, envers ces deux sucres à la fois. Nous retrouverons cette même distinction à ce point de vue entre les Crustacés d'eau douce et les Crustacés marin. Les premiers hydrolysent les deux sucres, tandis que les seconds hydrolysent le saccharose mais non pas le raffinose.

Nous avons répété plusieurs fois l'expérience sur l'action comparative du suc d'Aplysie envers le saccharose et le raffinose. Toutes les fois les résultats furent identiques : hydrolyse du saccharose, pas d'hydrolyse du raffinose.

Voici une expérience à titre d'exemple. On fait les deux mélanges suivants :

saccharose.	0 gr. 30		raffinose	0 gr. 30
eau	30 ^{cc}		eau	30 ^{cc}
suc d'Aplysie. . . .	10 ^{cc}		suc d'Aplysie. . . .	10 ^{cc}

On fait deux autres mélanges identiques à ceux-ci mais avec du suc bouilli, et un troisième avec 10^{cc} de suc non bouilli + 70^{cc} d'eau distillée. Thymol comme antiseptique. Après 24 heures de contact à la température de 37 — 39° le saccharose est complètement hydrolysé ; on trouve, en effet, un pouvoir réducteur correspondant à 0 gr. 31 de sucre interverti. Le raffinose n'a subi aucune hydrolyse, car il est impossible de déceler la moindre trace de sucre réducteur formé à ses dépens, même après quatre jours de contact.

Astacus fluviatilis ROND. et **A. leptodactylis** ESCHCH.—
L'*Astacus fluviatilis*, Crustacé d'eau douce, hydrolyse le saccharose, ainsi que l'a montré Stamati en opérant avec du suc de cet animal, recueilli par fistule stomacale. Nous avons trouvé que le suc de ce Crustacé hydrolyse également le raffinose. Ce dernier sucre se transforme très vite sous l'action du suc d'*Astacus* en lévulose et mélibiose ; l'action se porte ensuite sur le mélibiose, mais n'est en général qu'assez lente.

Le suc d'*Astacus leptodactylis* se comporte de la même façon.

Nous n'avons jamais obtenu une hydrolyse franche du raffinose par les sucs digestifs des Crustacés marins, tandis que, dans la plupart des cas, ces sucs agissaient sur le saccharose.

Palinurus vulgaris LATR. — Avec le suc digestif de la Langouste nous n'avons jamais obtenu une hydrolyse franche du saccharose. Quelquefois seulement, après un contact plus prolongé, on pouvait déceler des traces de sucre réducteur. Quant au raffinose, nous n'avons jamais obtenu la moindre production de sucre réducteur à ses dépens sous l'action du suc de *Palinurus*.

Homarus vulgaris M. EDW. — Le saccharose est hydrolysé par le suc de Homard, tandis que le raffinose ne l'est pas. Nous avons obtenu quelquefois du suc digestif de Homard, qui était *inactif* à la fois sur le saccharose et sur le raffinose. On retrouve donc chez les Crustacés pour d'autres ferments aussi cette inconstance que nous avons signalée pour l'émulsine de leurs sucs digestifs.

Carcinus mœnas LEACH. — On met du suc de *Carcinus* qui, comme nous l'avons déjà dit, est légèrement alcalin, en contact de saccharose et de raffinose dans les proportions suivantes :

saccharose	0 gr. 30		raffinose	0 gr. 30
eau	25 ^{cc}		eau.	25 ^{cc}
suc	3 ^{cc}		suc.	3 ^{cc}

Après quatre heures de contact à la température de 37—39°, l'inversion du saccharose est déjà avancée tandis que le raffinose n'a pas produit de sucre réducteur décelable par la liqueur de Fehling. Après 24 heures, l'inversion du saccharose est complète, ainsi que le témoigne le pouvoir réducteur du liquide. Les mélanges témoins n'ont pas fourni de sucre réducteur. Le raffinose n'a toujours pas subi la moindre hydrolyse, même après trois jours de contact avec le suc de *Carcinus*.

Dans une seule expérience nous avons obtenu une faible production de sucre réducteur aux dépens du raffinose, après plusieurs jours de contact. Cette action diastasique est douteuse.

Maja squinado LATR. — De même que le suc de *Carcinus*, celui de *Maja* hydrolyse facilement le saccharose, mais n'attaque pas le raffinose. Cinq expériences ont été faites à ce sujet, soit à la température ordinaire, soit à la température de 37—39° avec du suc digestif provenant de nombreuses *Maja*. Toutes les fois, le saccharose a été inverti en peu de temps, tandis que le raffinose n'a subi aucun dédoublement, même après six jours de contact. Une seule fois nous avons observé la

production d'une petite quantité de sucre réducteur aux dépens du raffinose; action diastasique douteuse.

Platycarcinus pagurus L. — De trois expériences faites sur l'action comparative du suc de ce Crustacé envers le saccharose et le raffinose, une a donné une hydrolyse avancée du saccharose en quelques heures, et aucun dédoublement du raffinose, même après cinq jours. Dans les deux autres expériences le suc était à la fois inactif envers ces deux sucres.

Portunus puber L. — On met en contact le suc de Portunus avec des solutions de saccharose et de raffinose, dans les proportions suivantes :

saccharose.	0 gr. 30		raffinose	0 gr. 30
eau	30 ^{cc}		eau.	30 ^{cc}
suc	2 ^{cc}		suc	2 ^{cc}

Après 24 heures de contact, à la température ordinaire, il y a 0 gr. 29 de sucre interverti formé aux dépens du saccharose. Le raffinose n'a subi aucune hydrolyse après six jours.

En résumé, les Mollusques terrestres (*Helix*, *Arion*), et les Crustacés d'eau douce (*Astacus*), possèdent dans leur suc les ferments hydrolysant le raffinose et le saccharose. Les Mollusques marins (*Aplysia*), et les Crustacés marins, ne possèdent pas de ferment atta-

quant le raffinose, tandis qu'ils possèdent une invertine hydrolysant le saccharose.

Quelle interprétation donner à ces faits ? Ou bien il faut admettre que l'hydrolyse du raffinose (tout au moins jusqu'au stade lévulose-mélibiose), et l'hydrolyse du saccharose, ne sont pas dues à un même ferment ; ou bien il faut admettre l'existence de deux espèces d'invertines, les unes hydrolysant le saccharose et le raffinose, — telles seraient les invertines de Mollusques terrestres et de Crustacés d'eau douce, l'invertine de levures, — les autres hydrolysant seulement le saccharose : invertines de Mollusques et de Crustacés marins, et invertine de Mammifères. C'est toujours la même alternative, comme nous l'avons déjà vu à propos des glucosides, du lactose, du maltose et de leurs dérivés : Plusieurs espèces d'un même genre de ferment, ou plusieurs ferments distincts. Le choix entre ces deux explications est arbitraire, comme nous l'avons montré dans l'Introduction de ce travail. Il n'y a que la méthode des vitesses de réaction qui permet de savoir, dans certains cas, si deux actions diastasiques d'un même liquide sont indépendantes. Or, cette méthode ne peut pas s'appliquer pour les dédoublements du saccharose et du raffinose par le suc d'*Helix*, car le saccharose est dédoublé beaucoup plus vite que ne l'est le raffinose ;

à une hydrolyse presque complète du saccharose correspond à peine un commencement d'hydrolyse du raffinose, de telle façon que, dans les expériences sur la vitesse d'hydrolyse, le pouvoir réducteur du mélange des deux sucres (saccharose + raffinose + suc) se rapproche autant du pouvoir réducteur du saccharose seul + suc, que de la somme de ce pouvoir réducteur avec celui du raffinose seul + suc.

Par la chaleur on ne réussit pas à séparer nettement ces deux actions diastasiques. Le suc d'*Helix* perd son activité envers le saccharose et le raffinose après un chauffage de 20 minutes à la température de 78°-80°.

Au lieu de distinguer deux sortes d'invertines chez les Mollusques et chez les Crustacés, et d'être obligé de rappeler que telle invertine se distingue de telle autre par sa façon de se comporter envers le raffinose, nous dirons que le suc digestif de certains Mollusques et de certains Crustacés possède une *raffino-lévulase*, pour interpréter ce fait, qu'il détache une molécule de lévulose de la molécule de raffinose ; le suc de ces mêmes animaux possède aussi une *mélibiase*, c'est-à-dire qu'il a la propriété d'hydrolyser le mélibiose.

H. Bierry et G. Barthet (1) ont fait comparativement

(1) G. BARTHET et H. BIERRY. *Sur la digestion des hexotrioses*. Compt. rend. Soc. Biol. LXIV, 1908, 651. *Sur la digestion du Stachyose*. Ibid., 1908, 735.

à nos expériences des essais sur l'hydrolyse du gentianose et du stachyose par le suc digestif des Mollusques et des Crustacés. Ils ont trouvé ce fait remarquable que toutes les fois que le raffinose subissait une hydrolyse par un suc digestif, ce même suc était aussi actif envers le gentianose et le stachyose. Et comme cette hydrolyse des trois polyoses a ceci de commun qu'elle consiste en un détachement de reste de lévulose, Bierry (1) attribue ce détachement du lévulose à un seul ferment, distinct de l'invertine, et qu'il nomme *lévulopolyase*.

(1) H. BIERRY. *Invertines et lactases animales. Leur spécificité*. Compt. rend. Académie des Sciences, 5 avril 1909.

CHAPITRE VIII

Les ferments des mannanes et des galactanes

I. — LES MANNANES ET LES GALACTANES

Il est établi aujourd'hui qu'un grand nombre de graines à albumen corné, contiennent des hydrates de carbone plus ou moins condensés fournissant à l'hydrolyse par les acides soit du mannose, soit du galactose, ou ces deux sucres à la fois. Ces polysaccharides sont désignés sous les noms de mannanes, de galactanes ou de mannogalactanes.

Müntz (1), en 1882, sépara le premier, de la graine de Luzerne, *Medicago sativa*, un hydrate de carbone se gonflant dans l'eau, ne s'y dissolvant que difficilement,

(1) MÜNTZ. *Sur la galactine*. Ann. de Chim. et de Physique (5) XXVI, 1882, 121.

et fournissant à l'hydrolyse par les acides, du galactose. Il nomma *galactine* cette substance. Bourquelot et Hérisséey reprirent plus tard l'étude de la galactine et montrèrent que cet hydrate de carbone ne donnait pas seulement du galactose par hydrolyse, mais encore un autre sucre, inconnu à l'époque des recherches de Müntz et qui n'était autre que le mannose découvert et étudié par Em. Fischer et Hirschberger (1) en 1888. Steiger en 1886 isola de la graine de Lupin une substance fournissant du galactose par hydrolyse et qu'il nomma β -galactane (pour la distinguer de la galactine de Müntz ou α -galactane) ; cependant, on n'est pas encore fixé sur la composition exacte de la β -galactane que Schultze nomma *lupéose*, en montrant que sa composition correspond sensiblement à la formule $(C_{12}H_{22}O_{11})_2$ ou $(C_{12}H_{22}O_{11})_3$. Sous l'action des acides étendus le lupéose fournit environ 50 % de galactose et 50 % d'un mélange de lévulose et d'un autre sucre qui n'a pas été déterminé mais qui n'est ni du mannose, ni un pentose. A côté du lupéose on trouve dans la graine de Lupin des quantités considérables d'une véritable galactane, que Schultze désigne sous le nom de *paragalactane*.

(1) EM. FISCHER und J. HIRSCHBERGER. Ueber Mannose I et II. Ber d. d. chem. Gesell. 21, (1888), 1805 ; 22, (1889), 365.

En hydrolysant par l'acide sulfurique à chaud, les albumens cornés de plusieurs Palmiers (*Phytelephas macrocarpa* R. et P., *Phoenix dactylifera* L., *Chamaerops humilis* THUNB., *Lodoicea seychellarum* LABILL., *Eloeis guinensis* JACQ) REISS (1) obtint, en 1889, un sucre réducteur, dextrogyre et fermentescible, mais n'étant pas cependant du dextrose, et qu'il nomma *séminose*. Il trouva que plusieurs autres graines n'appartenant pas à la famille des Palmiers, fournissaient également du séminose par hydrolyse ; telles sont les graines des plantes suivantes : *Allium Cepa* L., *Asparagus officinalis* L., *Strychnos Nux vomica* L., *Coffea arabica* L. En réalité, le séminose n'était pas un nouveau sucre ; FISCHER et HIRSCHBERGER (2) l'identifièrent avec le mannose. Si REISS l'avait considéré comme étant distinct de ce dernier sucre, cela tenait à ce que FISCHER et HIRSCHBERGER avaient prétendu, par erreur, que le mannose n'était pas précipitable par l'acétate de plomb, tandis que le sucre que REISS avait obtenu, tout en se combinant à froid à la phénylhydrazine sous forme d'hydrazone insoluble,

(1) REISS. Ueber die in den Samen als Reservstoff abgelagerte Cellulose und eine erhaltene neue Zuckerart, die « Seminose ». Ber. d. d. chem. Gesell. 22, (1889), 609.

(2) EM. FISCHER und HIRSCHBERGER. Ueber Mannose III et IV. Ber. d. d. chem. Gesell. 22, (1889), 1155 ; 22, (1889), 3218.

était cependant précipité par l'acétate de plomb en solution concentrée.

La présence de galactanes à côté de mannanes a été signalée par Schultze (1) dans les graines de plusieurs Palmiers : *Cocos nucifera* L., *Eloeis guinensis* JACQ., *Phoenix dactylifera* L. Une étude sur la composition chimique des hydrates de carbone de l'albumen de quelques Palmiers a été faite par E. Liénard (2) en 1902 ; il en résulte de cette étude que les albumens des Palmiers suivants : *Areca catechu* L., *Chamaerops excelsa* THUNB., *Astrocaryum vulgare* MART., *Ænocarpus bacaba* MART., *Erythea edulis* S. WATS, et *Sagus Rumphii* WILLD., renferment des petites quantités de sucre réducteur, de saccharose et de galactanes, mais contiennent par contre des manannes en très fortes proportions. Récemment C. Gatin (3) a étudié la composition chimique des hydrates de carbone des albumens de *Phytelephas macrocarpa* et de *Phoenix dactylifera*. Il les a trouvés constitués en majeure partie par des mannanes, mais, par contre de ce que Schultze avait publié sur la composi-

(1) SCHULTZE. Zur Chem. der Pflanzenmembranen. Zeitschrift f. physiol. Chemie 14, 1889, 227.

(2) E. LIÉNARD. Sur la composition des hydrates de carbone de réserve de l'albumen de quelques Palmiers C. R. Acad. Sciences, 135 (1902) 593.

(3) C. GATIN. Recherches anatomiques et chimiques sur la germination des Palmiers. Thèse doctorat ès-Sciences. Paris, 1906.

tion chimique des albumens de ces deux Palmiers, Gatin n'a pas pu déceler de galactose à côté du mannose, dans les produits d'hydrolyse de ces albumens par les acides, ce qui excluerait l'existence de galactanes à côté des mannanes dans ces albumens cornés.

L'albumen du Caroubier, *Ceratonia siliqua*, contient une manno-galactane qui avait été désignée par J. Efront (1) sous le nom de *caroubine*, cet auteur pensant qu'il s'agissait d'un hydrate de carbone fournissant par hydrolyse un nouveau sucre, le *caroubinose*. D'après Marlière (2) cet hydrate de carbone mucilagineux, des de graines de Caroubier, fournirait lorsqu'il est hydraté par les acides, du dextrose, du lévulose et du galactose, mais pas de mannose, car il ne put obtenir de la mannosehydrazone. Alb. van Ekenstein (3) cependant, montra un peu plus tard, que la *caroubine* donnait du *d*-mannose par hydrolyse, sucre qu'il obtint cristallisé. Bourquelot et Hérissé (4) complétèrent l'étude de cette substance et montrèrent qu'elle était constituée presque

(1) J. EFFRONT. *Sur un nouvel hydrate de carbone, la caroubine*. Journ. de pharm. et de chim. (6) VI 1897, 210-214.

(2) H. MARLIÈRE. *Sur la graine et spécialement l'endosperme du Ceratonia siliqua*. La Cellule, XIII (1897), 7.

(3) ALB. VAN EKENSTEIN. *Sur la caroubinose et sur la d-mannose*. C. R. Acad. Sciences CXXV (1897), 719.

(4) BOURQUELOT et HÉRISSEY. *Sur la composition de l'albumen de la graine de Caroubier, etc.* Journ. de pharm. et de chim. (6) X (1899), 153 et 249.

exclusivement par des mannanes et des galactanes, hydrolysables en totalité par l'acide sulfurique concentré et chaud.

Bourquelot et ses collaborateurs se sont surtout occupés de l'étude et de la recherche systématique des mannanes et des galactanes dans les graines. Ainsi, Bourquelot et Hérissé ont montré qu'il existait des manno-galactanes semblables à la *galactine* de Luzerne, dans de nombreuses autres graines de Légumineuses : le Fénugrec, le Trèfle, le Caroubier, le Canéficier. En poursuivant l'étude des manno-galactanes chez les Légumineuses, Goret (1) en montre la présence dans les graines de Févier d'Amérique, de Minette, de Mélilot de Sibérie, de Lotier et d'Indigo, qui toutes contiennent des quantités considérables de manno-galactanes. Bourquelot et Laurent (2) ont mis en évidence l'existence de manno-galactanes dans l'albumen de la Noix vomique et de la Fève de Saint-Ignace. Tandis que Champenois (3) en a montré la présence dans la graine de plusieurs Ombellifères.

(1) M. GORET. *Etude chimique et physiologique de quelques albumens cornés*. Thèse de Pharmacie. Paris, 1901.

(2) BOURQUELOT et LAURENT. *Sur la nature des hydrates de carbone de réserve contenus dans l'albumen de la Fève de Saint Ignace et de la Noix vomique*. Journ. de pharm. et de chim. (6) XII (1900), 313.

(3) CHAMPENOIS. *Etudes des hydrates de carbone de réserve de quelques graines d'Ombellifères et de Cornées*. Thèse Pharmacie. Paris, 1902.

Dans la plupart des cas on rencontre dans les graines, des mannanes et des galactanes à la fois. Cependant on peut trouver une de ces substances à l'exclusion de l'autre. Ainsi l'albumen de Dattier (*Phoenix dactylifera*) et de *Phytelephas*, d'après Gatin (1), contiennent des mannanes sans galactanes ; dans les graines de l'*Asperge*, de plusieurs *Liliacées* et d'*Orchidées* on a constaté la présence soit de mannanes seules soit de galactanes seules.

Il n'y a pas que les graines qui contiennent des mannanes et des galactanes. Ces substances sont extrêmement répandues dans le règne végétal. D'après Müntz, de nombreuses gommés et matières mucilagineuses végétales, fournissent du galactose par hydrolyse. Les Algues semblent être extrêmement riches en ces substances ; l'*Agar-agar* est formé en majeure partie par des galactanes. On trouve des mannanes dans le bois de *Gymnospermes*, d'après G. Bertrand (2).

Lippmann a isolé de la racine de *Betterave* une galactane qu'il a nommée γ -galactane. On a trouvé aussi dans la racine de plusieurs *Caryophyllées*, dans celle de

(1) GATIN. *loc. cit.*

(2) G. BERTRAND. *Sur la présence de mannocellulose dans le tissu ligneux des plantes gymnospermes*. C. R. Acad. Sciences 127, (1899), 1025.

Silena vulgaris en particulier, une substance ressemblant à la dextrine, la *lactosine*, mais fournissant du galactose par hydrolyse (Meyer).

Les tubercules de nombreuses Orchidées contiennent également des mannanes; le *salep* qu'on emploie en Orient à la préparation d'une boisson chaude, n'est pas autre chose que des tubercules desséchées de certaines Orchidées. Gans et Tollens, en hydrolysant du mucilage de salep par des acides à chaud, obtinrent du mannose qu'ils isolèrent sous forme d'hydrazone.

Remarquons que les mannanes et les galactanes d'origines si différentes sont loin d'être identiques. Les seuls caractères qui leur sont communs, sont la production de mannose et de galactose par hydrolyse, et la plus ou moins grande condensation de ces sucres dans leurs molécules. Mais elles se distinguent les unes des autres par de nombreux caractères : solubilité, pouvoir rotatoire, résistance aux agents hydrolysant, etc. Si les manno-galactanes de différentes Légumineuses (Caroubier, Fénugrec, Luzerne) présentent entre elles d'incontestables analogies, elles sont d'autre part bien distinctes des mannanes de *Phytelephas* et de *Dattier*, par exemple. Tandis que les premières se gonflent et se dissolvent dans l'eau, les secondes sont complètement insolubles.

Il n'y aura donc pas lieu de s'étonner que les ferments ne se comportent pas toujours de la même façon envers les différentes manno-galactanes. Ainsi, comme nous le verrons plus loin, le suc digestif de certains Crustacés marins est inactif envers la manno-galactane de Luzerne et la galactane de l'agar-agar tandis qu'il hydrolyse facilement la mannane de *Phytelephas* (corrozo). D'après Bourquelot et Hérissé, la seminaise de Luzerne, ferment hydrolysant la manno-galactane de cette graine, est sans action envers l'albumen de *Phoenix canariensis* qui contient aussi une manno-galactane.

II. - LES FERMENTS HYDROLYSANT LES MANNANES ET LES GALACTANES

Nous venons de voir que les mannanes et les galactanes se trouvent surtout dans les graines de nombreuses plantes appartenant à des familles naturelles bien distinctes, souvent en proportions très considérables, puisqu'elles représentent dans plusieurs cas à elles seules l'unique réserve hydrocarbonée de la graine.

On doit donc les envisager comme étant des réserves alimentaires servant à la jeune plantule lors de la germination. Il était tout indiqué de rechercher dans les

graines, des ferments liquefiant et hydrolysant ces albumens cornés afin de les rendre utilisables pour la plante. On sait depuis longtemps que les albumens cornés, comme celui du Dattier par exemple, se ramollissent pendant la germination, mais depuis peu de temps seulement, on a mis en évidence un ferment végétal hydrolysant les mannanes et les galactanes. Brown et Morris (1) ont observé que la *cytase*, ferment contenu dans la graine d'Orge, liquéfie les parois cellulosiques de l'albumen de cette graine, mais n'exerce aucune action sur l'albumen du Dattier, albumen formé en majeure partie par des mannanes.

D'après Grüss (2), au moment de la germination des graines de Dattier, il y a dans ces graines un ferment liquefiant et saccharifiant l'albumen corné ; mais le ferment ne fut pas isolé par cet auteur. Effront (3) réussit à extraire des graines de Caroubier en germination, un ferment qu'il nomma *Caroubinase* ; ce ferment liquefie et saccharifie la *caroubine*, — hydrate de carbone isolé par lui de la même graine, et qu'on a reconnu plus tard

(1) DUCLAUX. *Traité de Microbiologie* II p. 26.

(2) GRÜSS. Ueber die Einwirkung der Diastase Ferment auf Reservecellulose. Ber. d. d. Chem. Geullsch. XII (1882) 60.

(3) EFFRONT. Sur un nouvel enzyme hydrolytique, la *caroubinase* C. R. Acad. Sciences CXXV (1897) 116 et Journ. de Pharm. et de chim. (6) VI (1897) 212.

être une manno-galactane. Après avoir déterminé la composition exacte de la substance hydrocarbonée de l'albumen de Caroubier, Bourquelot et Hérissé⁽¹⁾ confirmèrent l'existence, dans cette même graine, d'un ferment, qu'ils nommèrent *séminase*, et qui hydrolyse les manno-galactanes de Caroubier de la même façon que les acides, en produisant du galactose et du mannose. Ils retrouvèrent un pareil ferment dans l'albumen corné de nombreuses graines et chez une moisissure, l'*Aspergillus niger* ; ils montrèrent aussi que l'hydrolyse diastatique des manno-galactanes ne pouvait être attribuée aux autres ferments connus (amylase, invertine, émulsine) et que la *séminase* est par conséquent un ferment distinct des autres ferments des hydrates de carbone. La *séminase* de la graine de Luzerne agit aussi bien sur les manno-galactanes d'autres Légumineuses, que sur celles de la même graine. D'après Hérissé⁽²⁾, la *séminase* de Luzerne hydrolyse les manno-galactanes des Légumineuses suivantes : *Trigonella Fœnum-græcum* L., *Ulex europæus* L., *Trifolium repens* L., *Robinia*

(1) BOURQUELOT et HÉRISSEY. Sur les ferments solubles produits pendant la germination, par les graines à albumen corné ; Journ. de Pharm. et de chim. (6) XI (1900) 104 ; — Sur l'individualité de la *séminase*, etc. Journ. de Pharm. et de chim (6) XI (1900) 357.

(2) HÉRISSEY. Sur la digestion des mannanes et des galactanes par la *séminase*. Thèse Pharmacie. Paris 1903, p. 55.

pseudo-acacia L., *Ceratonia siliqua* L. ; ce même ferment hydrolyse aussi les mannanes du salep et les mannanes des tubercules de plusieurs Orchidées : *Orchis militaris*, *Orchis montana* Schm., *Orchis bifolia* L., *Orchis purpurea* Huds., *Orchis batifolia* L.) Les manno-galactanes des graines de Légumineuses, étudiées par Goret, sont également hydrolysées par la séminase de Luzerne.

Il existe aussi, d'après Bourquelot et Hérissé (1) dans la graine d'un Palmier, *Phœnix canariensis* Hort., un ferment hydrolysant l'albumen de cette graine et produisant du mannose ; cette séminase de Palmier est active envers les mannanes de Caroubier, mais par contre, la séminase de Luzerne est sans action sur les mannanes de ce Palmier. Les tubercules d'Orchidées contiennent à côté des mannanes un ferment capable de les hydrolyser. Les graines d'Orge semblent aussi posséder une séminase, car la diastase d'Orge germée fluidifie et saccharifie lentement un empois d'albumen de Caroubier. Enfin, l'*Aspergillus Niger* et l'*Aspergillus fuscus*, surtout lorsqu'ils sont cultivés sur un milieu contenant des manno-galactanes, contenant un ferment

(1) BOURQUELOT et HÉRISSEY. *Sur la composition de l'albumen de la graine de Phoenix Canariensis*, etc. Journ. de pharm. et de chim. (6) X, 1901, 193.

hydrolysant lentement les manno-galactanes de Légumineuses et du salep.

L'existence de ferments chez les végétaux, hydrolysant les mannanes et les galactanes, est une chose acquise. En est-il de même en ce qui concerne l'existence de ces ferments chez les animaux ?

Toutes les recherches faites jusqu'à présent pour mettre en évidence de tels ferments chez les animaux supérieurs n'ont donné que des résultats négatifs. M^{me} Gatin Gruzewska et M. Gatin (1) ont montré que les mannanes du salep ne sont pas attaquées par le suc pancréatique de Chien, pas plus que par la pancréatine de Porc, le sang de Lapin et le sérum de Poulet. En plus ils ont rectifié les assertions de Sawamura (2) en montrant que les macérations d'intestin et de pancréas de Porc, ne produisent pas de mannose aux dépens de certaines mannanes constituant des préparations alimentaires employées au Japon, et que ces mannanes ne sont pas hydrolysées non plus par l'acidité du suc gastrique.

D'après Saiki (3), les polysaccharides de certains

(1) M^{me} et M. C.-L. GATIN. *Action de quelques diastases animales sur certaines mannanes*. Comp. rend. Soc. Biol. LVII, I, 1905, 847. Bull. Sc. pharmacologiques, août 1907.

(2) SAWAMURA. Bull. of the college of Agriculture. Tokyo t. V, n° 2, 1902.

(3) T. SAIKI. The digestibility and utilisation of some polysaccharide carbohydrates derived from lichen and marine algae. Journ. of biolog. chem. II. 1906; 251-265.

Lichens et de certaines Algues marines (*Cetraria islandica*, *Chondrus crispus*, *Lanternaria japonica*, *Undaria pinnatifida*, *Porphyra*, *Agar-agar*) ne sont pas attaqués par les ferments des animaux supérieurs ; or parmi les polysaccharides de ces végétaux figurent des mannanes et des galactanes en plus ou moins grandes proportions. Enfin, avec Bierry nous avons recherché chez le Chien et chez le Lapin, des ferments dédoublant les manno-galactanes de la graine de Luzerne ; tous nos résultats furent négatifs.

Sur la question de l'existence de ferments des mannanes et des galactanes chez les Invertébrés il n'existe qu'un seul travail, celui de Biedermann et Moritz (1). Ces auteurs ont constaté, sous le microscope, la dissolution partielle ou complète, des membranes cellulaires de coupes histologiques d'un certain nombre d'organes végétaux, imbibées de suc digestif d'*Helix pomatia*.

Ainsi, les albumens du Dattier, du Phyllephas, du Lupin, du Blé et du Café, la racine de Betterave et de Radis, la tige d'Asperge, des feuilles de salade et le tubercule de pomme de terre, subissent une dissolution plus ou moins avancée sous l'action du suc d'*Helix*. Dans certains cas seulement il a été recherché à carac-

(1) BIEDERMANN und MORITZ. Pflüger's Archiv, LXXIII, 1898.

tériser les produits résultant de cette liquéfaction. Il a été constaté que la racine de Betterave produit du glucose et des pentoses, sous l'action du suc d'Helix et que l'albumen du Dattier produit du mannose, sucre caractérisé par son hydrazone. D'autre part, ayant constaté que le suc gastrique d'Astacus liquefie aussi l'albumen du Dattier, Biedermann et Moritz en concluent qu'il existe chez ces deux animaux une cytase, ferment hydrolysant les diverses espèces de celluloses et d'hemi-celluloses : mannanes, galactanes, xylanes, etc.

En réalité, le travail de Biedermann et Moritz permet plutôt de prévoir des résultats intéressants dans la recherche des ferments des polysaccharides chez les Invertébrés, qu'il ne donne de faits précis ; car, en opérant sur des produits complexes et mal définis, tels que des tissus végétaux, il ne suffit pas de constater une liquéfaction pour pouvoir affirmer la présence d'un ferment, ni même de constater la production d'un sucre si on ne sait pas aux dépens de quelle substance chimiquement déterminée ce sucre a été produit.

Recherches personnelles

Étude de l'action des sucs digestifs des Mollusques et des Crustacés sur quelques mannanes et galactanes

Nous avons cherché chez les Mollusques et chez les Crustacés, des actions diastasiques envers un certain nombre de mannanes et de galactanes. Nous avons choisi, parmi le grand nombre de ces substances, quelques-unes de composition chimique bien définie, et représentant, en même temps, les principaux aspects sous lesquels se présentent les mannanes et les galactanes.

Les substances suivantes nous ont servi dans nos expériences : 1° Galactine (manno-galactane de la graine de Luzerne) ; 2° Manno-galactane de la graine de Fénugrec ; 3° Mannane de *Phytelephas macrocarpa* (corrozo) ; 4° Mannane de *Phoenix dactylifera* ; 5° Galactane d'Agar-agar.

Parmi ces produits, la galactine et la manno-galactane de Fénugrec sont solubles dans l'eau, tandis que les mannanes de Phytéléphas et de Phœnix sont complètement insolubles. L'Agar-agar se prend en gelée de ses solutions aqueuses.

I. — LA GALACTINE

(Manno-galactane de la graine de Luzerne)

La galactine a été découverte par Müntz (1), en 1882, qui montra que cette substance traitée par l'acide sulfurique à chaud, produisait du galactose et un autre sucre qu'il ne détermina pas et que Bourquelot et Hérissé reconnurent être du mannose.

Nous avons préparé cette manno-galactane par le procédé de Müntz, modifié par Bourquelot et Hérissé (2).

Un kilogramme de graines de Luzerne, réduites en poudre, sont mises à macérer pendant quatre jours dans quatre litres d'une solution d'acétate neutre de plomb à 4 p. 100, en ayant soin d'agiter de temps en temps la macération. Ensuite on décante le liquide et on

(1) MÜNTZ. *Sur la galactine*. Ann. de Chim. et de Physique (5) XXVI, 1888, 121.

(2) BOURQUELOT et HÉRISSEY. *Les hydrates de carbone de réserve des graines de Luzerne et de Fénugrec*. Journ. de pharm. et de chim. (6), XI, 1900, 589.

exprime le résidu dans un linge à mailles peu serrées. Les liquides ainsi recueillis sont filtrés et on ajoute par litre 2 gr. d'acide oxalique dissous dans un peu d'eau. On laisse reposer pendant 24 heures et on se débarrasse par filtration du précipité d'oxalate de plomb. Le filtrat limpide est additionné de 1 vol. 1/2 d'alcool à 90°. Il se produit un précipité blanc et floconeux constitué par la manno-galactane ; celle-ci se dépose au fond du vase. Après 24 heures on la recueille sur un filtre et on la lave à l'alcool à 90° ; on la délaie ensuite dans de l'alcool à 95° et on porte à l'ébullition pendant un certain temps au réfrigérant ascendant. Après cela on recueille la manno-galactane sur un filtre et on la dessèche dans le vide sulfurique. Nous avons obtenu un rendement en manno-galactane de 3 % du poids de graines employé. Réduite en poudre elle est complètement blanche, elle se gonfle dans l'eau et se prend en grumeaux. Pour en obtenir une solution parfaite il faut opérer avec des faibles concentrations ; on délaie la manno-galactane dans une petite quantité d'eau, on chauffe tout en ajoutant peu à peu de nouvelles quantités d'eau, on complète la dissolution en portant le liquide à l'autoclave à 110° pendant 30 minutes. On obtient ainsi des solutions opalescentes qui se clarifient par addition de quelques gouttes de lessive de soude.

Pour déterminer la composition de notre manno-galactane nous l'avons préalablement deshydratée en la maintenant pendant quatre heures à l'étuve à 100°. Ce produit avait le pouvoir rotatoire

$$[\alpha]_D = + 84^\circ$$

Müntz avait trouvé pour son produit $[\alpha]_D = + 84^\circ 5$ et Bourquelot et Hérissé $[\alpha]_D = + 84^\circ 26$.

Nous l'avons hydrolysée de la façon suivante :

On dissout aussi bien que possible 2 gr. de manno-galactane anhydre dans 100^{cc} d'eau distillée; on ajoute 2 gr. 50 d'acide sulfurique pur et on chauffe ce mélange à l'autoclave à 110° pendant une heure. On arrête le chauffage et on agite bien le mélange afin d'en faciliter la dissolution; ceci fait, on le porte de nouveau à 110° pendant deux heures; après refroidissement complet on neutralise exactement par de la soude. Ce liquide possédait un pouvoir réducteur correspondant à 1 gr. 925 de glucose. On y dose le mannose par son hydrazone, le galactose par l'acide mucique, et on trouve ainsi que 2 gr. de manno-galactane ont donné 0,935 gr. de galactose.

Helix pomatia L. — La galactine est hydrolysée par le suc d'*Helix* en mannose et en galactose :

On met en contact, 2^{cc} de suc d'*Helix* avec 2 gr. de galactine incomplètement dissoute dans 100^{cc} d'eau distillée, par un chauffage à 110° pendant 15 minutes. Un centimètre cube de toluol et un peu de thymol sont ajoutés comme antiseptiques. Un mélange identique à celui-ci mais avec du suc *bouilli* sert de témoin, ainsi qu'un mélange de suc non bouilli et d'eau distillée. Les trois flacons contenant ces mélanges sont laissés à l'étuve, à la température de 38°, pendant 3 jours. On procède ensuite au dosage du mannose et du galactose. Les deux flacons témoins ne contiennent pas de sucre réducteur. Par contre, dans le troisième flacon, la galactine est presque complètement liquéfiée et le liquide réduit fortement la liqueur de Fehling. On traite le contenu de ce flacon par 3 volumes d'alcool à 95°, pour précipiter les albuminoïdes du suc et la galactine non hydrolysée. On laisse le précipité se déposer pendant 24 heures; on s'en débarrasse par filtration et on concentre le filtrat au bain-marie, en s'aidant du vide, jusqu'à consistance sirupeuse. On reprend ce sirop par de l'eau chaude et on recueille ainsi 30^{cc} de liquide sucré. Ce liquide contient encore des manno-galactanes dont il fallait s'en débarrasser complètement, car nous nous sommes assuré que leur présence pouvait être une cause d'erreur dans les dosages du mannose

par son hydrazone. On se débarrasse de ces manno-galactanes en traitant le liquide par une petite quantité de nitrate mercurique. On dose le sucre réducteur et on trouve que les 2 gr. de galactine ont produit 0 gr. 292 de sucre réducteur calculé en glucose. On concentre le liquide restant et on le partage en deux parties ; l'une est additionnée de phénylhydrazine acétique dans le but d'y doser le mannose et l'autre est additionnée d'une quantité convenable d'acide nitrique ($d=1,2$) pour y doser le galactose par l'acide mucique, d'après les indications de Tollens. On a obtenu ainsi une quantité de mannose-hydrazone, d'après laquelle on calcule que les 2 gr. de galactine ont fourni 0,090 de mannose. D'après le poids d'acide mucique recueilli, cette même quantité de galactine a fourni 0,192 de galactose.

Dans une autre expérience faite dans des conditions identiques, mais dans laquelle le suc d'*Helix* est resté en contact de la galactine pendant huit jours, il s'est formé aux dépens de 2 gr. de galactine, 1,041 de sucre réducteur (calculé en glucose). Parmi celui-ci il y a 0 gr. 522 de mannose et 0,490 de galactose.

En résumé, la saccharification de la galactine, mise à la dose de 2 gr. en contact de 2^{cc} de suc d'*Helix*, s'est faite de la façon suivante :

Durée de contact	Sucre réducteur en glucose	Mannose	Galactose
3 jours	0 gr. 292	0 gr. 090	0 gr. 192
8 jours	1 041	0 522	0 490

Astacus fluviatilis ROND. — Le suc d'Ecrevisse hydrolyse aussi la manno-galactane de Luzerne. Cette hydrolyse ne se fait en général que lentement. De plus, il semble qu'il n'y a que la galactane qui soit attaquée. Dans les conditions où nous expérimentions, nous n'avons pu déceler une seule fois du mannose dans les produits d'hydrolyse diastasique de la galactine par le suc d'Astacus, tandis qu'il y avait des quantités considérables de galactose. En tout cas, le galactose et le mannose n'apparaissent pas simultanément dans les produits d'hydrolyse de la galactine par le suc d'Astacus ; une mise en liberté de galactose n'est pas nécessairement suivie d'une mise en liberté de mannose. On peut considérer ce fait comme une preuve que la galactine est un mélange de mannane et de galactane et non pas une combinaison du mannose au galactose.

Tandis que la mannane de la galactine n'est pas attaquée par le suc d'Astacus, la mannane du corrozo est facilement hydrolysée par ce même suc. On retrouve un fait semblable chez certains Crustacés marins dont le suc digestif est complètement inactif sur la manno-galactane de Fenugrec, tandis qu'il hydrolyse facilement la mannane du corrozo.

Voici une expérience faite comparativement avec la

mannane de corrozo et la manno-galactane de Luzerne (galactine):

On sonde 16 Ecrevisses (*Astacus fluviatilis*) et on recueille ainsi 10^{cc} de suc digestif qu'on dilue à 20^{cc} par addition d'eau distillée. On fait les mélanges suivants :

I		II	
eau	100 ^{cc}	eau	100 ^{cc}
galactine.	2 gr.	corrozo	2 gr.
suc	4 ^{cc}	suc	4 ^{cc}

Avant d'additionner le suc, l'hydrate de carbone mis en contact de l'eau a été porté à l'autoclave à 110° pendant 15 minutes. Deux autres mélanges identiques à ceux-ci, mais avec du suc *bouilli*, et un troisième contenant de l'eau et du suc non bouilli, servent de témoins.

Antiseptique : toluol et thymol. Tous ces mélanges sont placés à l'étuve (37°-39°). Après 24 heures, le mélange II réduit la liqueur de Fehling, tandis que le mélange I est précipité par cette liqueur et ne la réduit pas du tout. Après 5 jours, la galactine a produit des traces de sucre réducteur, tandis que le corrozo en a produit une quantité considérable. En effet, après avoir déféqué les liqueurs contenant le corrozo, on constate que le témoin avec suc bouilli, de même que celui avec suc plus eau distillée, ne réduisent pas du tout la liqueur de Fehling ; par contre, le flacon avec suc non bouilli plus corrozo, contient 0 gr. 20 de sucre réducteur calculé en glucose. Parmi ce sucre réducteur il y a 0,162 de mannose, dosé par la mannosehydrazone.

La galactine n'a produit que des traces de sucre réducteur après 10 jours de contact. On l'additionne de nouveau à ce moment de 6^{cc} de suc d'*Astacus*. Après un nouveau contact de 10 jours on constate qu'elle est partiellement liquéfiée et qu'il s'est formé une certaine quantité de sucre réducteur. Le liquide est traité comme nous l'avons déjà décrit à propos du suc d'*Helix*, par l'alcool et le nitrate mercurique. Le liquide ainsi déféqué et très concentré possède un

pouvoir réducteur correspondant à 0 gr. 152 de sucre réducteur provenant de 2 gr. de galactine.

Ce liquide mis en contact de phénylhydrazine acétique ne donne aucune formation de mannosehydrazone même après 24 heures de contact, mais porté à l'ébullition au bain-marie, pendant 1 h. 1/2, il y a formation d'une osazone insoluble à chaud, ayant au microscope l'aspect caractéristique de la galactosazone. Purifiée sur un filtre, à l'eau chaude et à l'acétone étendue de son volume d'eau, et puis desséchée à l'étuve, elle fondait instantanément au bloc Maquenne à la température de 212°—214° c'était donc de la galactosazonè, car en opérant avec cette osazone obtenue avec du galactose pur nous avons trouvé le même point de fusion.

Dans une autre expérience menée de la même façon que la précédente, on a mis en contact 12^{cc} de suc d'*Astacus fluviatilis* avec 2 gr. de galactine dissoute dans 100^{cc} d'eau. Après trois jours d'étuve il y a 0,115 de sucre réducteur (calculé en glucose). On n'y décèle pas de mannose, mais, par contre, il y a du galactose, caractérisé par son osazone et la production d'acide mucique.

II. — MANNO-GALACTANE DE FÉNUGREC

Cette manno-galactane a été isolée du Fénugrec par Bourquelot et Hérissé, qui montrèrent que sa composition se rapproche de celle de la galactine de Luzerne, avec cette différence cependant, que la galactine donne par hydrolyse des poids sensiblement égaux de mannose

et de galactose, tandis que la manno-galactane de Fénugrec donne du mannose en quantité prédominante.

Nous l'avons préparée et purifiée de la même façon que la galactine, avec cette seule différence cependant, que nous avons prolongé la macération des graines broyées, dans l'acétate de plomb, pendant 15 jours au lieu de 4 jours. Nous avons ainsi obtenu un rendement de beaucoup supérieur à celui obtenu pour la galactine. En partant d'un kilogramme de graines de Fénugrec, nous avons obtenu 110 gr. de manno-galactane pure, c'est-à-dire un rendement de 11 %. Ce produit se présente sous forme de poudre blanche, se gonflant dans l'eau de même que la galactine. Desséché à l'étuve à 100° pendant plusieurs heures, notre produit avait le pouvoir rotatoire :

$$[\alpha]_D = + 93,3$$
$$(\alpha = 0^0,55'; p = 0^m,50; v = 100^{cc}; l = 2)$$

Helix pomatia L. — La manno-galactane de Fénugrec, de même que la galactine, est hydrolysée par le suc d'Helix, en produisant du galactose et du mannose. Les expériences ont été faites dans les mêmes conditions que celles relatives à l'action du suc d'Helix sur la galactine.

On fait le mélange suivant, accompagné de témoins comme il a été indiqué pour la galactine.

Manno-galactane de Fénuqrec	2 gr.
Eau	100 ^{cc}
Suc d'Helix	2 ^{cc}

Thymol et toluol comme antiseptiques. Après trois jours de séjour à l'étuve (37-39°) les liquides sont traités par l'alcool à 95°, concentrés et puis traités au nitrate mercurique. Les flacons témoins ne contiennent pas trace de sucre. Par contre, le flacon contenant la mannogalactane et le suc d'Helix non bouilli, contient 0,300 de sucre réducteur calculé en glucose. Parmi ce sucre réducteur il y a 0 gr. 062 de mannose dosé par son hydrazone et 0.232 de galactose dosé par sa transformation en acide mucique.

Dans une autre expérience faite avec les mêmes proportions de suc et de manno-galactane, mais dont le contact a duré huit jours, il y a de formé 1 gr. 115 de sucre réducteur calculé en glucose ; on trouve 0 gr. 500 de galactose et 0 gr. 543 de mannose.

Résumons ces deux expériences dans lesquelles 2^{cc} de suc d'Helix ont été mis au contact de 2 gr. de manno-galactane de Fénuqrec pendant trois jours et pendant huit jours :

Durée du contact	Sucre réducteur en glucose	Mannose	Galactose
3 jours	0 gr. 300	0 gr. 062	0 gr. 232
8 jours	1 115	0 400	0 643

Astacus fluviatilis ROND. — En faisant agir des quantités considérables de suc d'Astacus sur la manno-galactane de Fénugrec, on obtient à côté du galactose des faibles proportions de mannose. La mannane est donc plus difficilement attaquée. Avec des faibles quantités de suc, il n'y a que la galactane qui subit une hydrolyse ; les choses se passent donc d'une façon semblable à ce qui a lieu pour l'action du suc d'Astacus sur la galactine.

On fait agir le suc d'Astacus sur la manno-galactane de Fénugrec dans les proportions suivantes :

eau	100 ^{cc}
manno-galactane .	2 gr.
suc.	18 ^{cc} (provenant de 40 individus).

Après 3 jours de contact à la température de 37-39° le liquide est traité par 2 vol. 1/2 d'alcool à 95°. Le filtrat, concentré dans le vide, est débarrassé du reste de manno-galactane par une petite quantité de nitrate mercurique.

On constate qu'il s'est formé 0 gr. 503 de sucre réducteur calculé en glucose. D'après la mannose-hydrazone obtenue, il y a 0 gr. 110 de mannose parmi ce sucre réducteur, et d'après l'acide mucique obtenu il y a 0 gr. 385 de galactose.

Carcinus mœnas LEACH., **Platycarcinus pagurus** L., **Maja squinado** LATR., **Homarus vulgaris** M. EDW. — Les sucs digestifs de ces trois Crustacés marins sont sans

aucune action envers la manno-galactane de Fénugrec, même lorsqu'on les laisse en contact, en quantités considérables et pendant une dizaine de jours, avec cette manno-galactane. Ce qui est intéressant c'est que le suc des deux derniers Crustacés, *Maja squinado* et *Homarus vulgaris*, qui est inactif envers la manno-galactane de Fénugrec, est capable d'hydrolyser la mannane du corrozo.

III. — MANNANE DE PHYTELEPHAS (Corrozo)

L'albumen de la graine de *Phytelephas macrocarpa* est constitué en majeure partie par des hydrates de carbone fournissant du mannose à l'hydrolyse, par les acides. Reiss (1) a observé le premier que le sucre, provenant de cette hydrolyse, n'était pas du glucose : il le nomma *seminose* ; mais ce sucre fut bientôt identifié par Fischer et Hirschberger (2) avec le mannose. C. Gatin (3) a montré récemment que la portion insoluble de cet albumen était composée de mannanes complètement hydrolysables par l'acide chlorhydrique à 5. p. 100, et qu'elle fournissait ainsi environ

(1) REISS. *Loc. cit.*

(2) FISCHER et HIRSCHBERGER. *Loc. cit.*

(3) GATIN. *Loc. cit.*

80 p. 100 de son poids de mannose. L'albumen contient aussi de la cellulose plus difficilement hydrolysable que les mannanes, mais ne contient pas de galactanes, contrairement à ce que Schultze avait prétendu.

Nous nous sommes servi dans nos expériences de cette partie insoluble de l'albumen de *Phytelephas*. A cet effet, on épuisait de la poudre de corrozo par de l'eau bouillante jusqu'à ce que tout ce qui est soluble fût enlevé. Le résidu, desséché à l'étuve, est formé d'une poudre blanche ne subissant aucun changement au contact de l'eau, même après un long chauffage à 110°.

Helix pomatia L. — Le suc digestif d'*Helix* hydrolyse les mannanes du corrozo. Les expériences suivantes, à titre d'exemples, montrent suffisamment qu'il y a production de mannose et de dextrose aux dépens du corrozo, sous l'action du suc d'*Helix* :

On met 2 gr. de corrozo insoluble, dans 100^{cc} d'eau, et on porte le tout à l'autoclave pendant 15 minutes à 110°. Le corrozo ne s'est ni gonflé ni dissous par ce chauffage. Après refroidissement on ajoute au liquide 2^{cc} de suc d'*Helix*. Un mélange identique à celui-ci, mais avec du suc bouilli, sert de témoin. Antiseptique : toluol. Après 3 jours d'étuve à 37-39° on défèque les contenus des deux flacons par le nitrate mercurique. Ceci fait, on constate que le flacon témoin ne contient pas de sucre réducteur, par contre le contenu du second flacon accuse un pouvoir réducteur correspondant 0 gr. 291 de mannose. Ce liquide examiné au polarimètre accuse une déviation α de la lumière polarisée, de + 0°, 24 ; or, en supposant que le sucre

réducteur que nous avons dosé soit du mannose seul, α devrait être égal à $0^{\circ}, 11$. Ce fait nous permettait de prévoir qu'il y avait à côté du mannose une certaine quantité de glucose, ce dernier sucre ayant un pouvoir rotatoire supérieur à celui du mannose. Pour doser le mannose par son hydrazone, on additionne 40^{cc} du liquide sucré, d'une quantité convenable de phénylhydrazine acétique. L'hydrazone se forme au bout de quelques instants. Après 6 heures de contact on la recueille sur un double filtre préalablement taré. Ensuite on la purifie à l'eau glaciale, à l'alcool à 95° et à l'éther; après dessiccation complète l'hydrazone pesait 0 gr. 309, ce qui équivaut à 0 gr. 203 de mannose; en rapportant cette teneur en mannose à 50^{cc} de liquide, il en ressort qu'il s'est formé aux dépens des 2 gr. de corrozo, 0 gr. 254 de mannose. Le filtrat, provenant du liquide au sein duquel s'est formé la mannosehydrazone, est laissé pendant plusieurs heures à la température ordinaire; il ne se forme plus d'hydrazone. A ce moment on l'additionne de phénylhydrazine acétique et on le porte au bain-marie bouillant; il se forme à chaud de la glucosazone, caractérisée par son point de fusion.

Dans une autre expérience on met 2 gr. 50 de corrozo au contact de 3^{cc} de suc d'Helix et de 80^{cc} d'eau. Après 8 jours de contact on trouve qu'il s'est formé 0 gr. 520 de sucre réducteur calculé en mannose, parmi lequel il y a 0 gr. 466 de mannose calculé d'après l'hydrazone.

En résumé, dans la première expérience il s'est formé aux dépens de 2 gr. de corrozo :

Sucre réducteur calculé en mannose.	0 gr. 291
Mannose, dosé par la mannosehydrazone	0 gr. 254

Dans la seconde il s'est formé aux dépens de 2 gr. 50 de corrozo :

Sucre réducteur calculé en mannose	0 gr. 520
Mannose dosé par la mannosehydrazone.	0 gr. 466

Astacus fluviatilis ROND. — Nous avons dit à propos de l'action du suc d'Astacus envers la galactine, que la mannane du corrozo était hydrolysée par ce suc, tandis que nous n'avions jamais obtenu d'hydrolyse appréciable de la mannane de la galactine.

Voici un exemple de l'hydrolyse de la mannane du corrozo par le suc d'Astacus.

On fait le mélange suivant :

eau.	100 ^{cc}
corrozo.	2 gr.
suc.	6 ^{cc}

Thymol et toluol comme antiseptiques. Témoins avec suc bouilli, et avec suc non bouilli plus eau distillée. Après 3 jours de contact à la température de 37-39°, on traite les flacons par le nitrate mercure. On constate que les témoins ne contiennent pas de sucre réducteur. Sous l'action du suc d'Astacus non bouilli, le corrozo a produit 0 gr. 320 de sucre réducteur calculé en mannose. D'après la mannosehydrazone obtenue il y a 0 gr. 275 de mannose parmi ce sucre réducteur. Il n'y a pas de galactose, mais il y a du glucose ainsi que l'indiquent le pouvoir rotatoire du liquide, plus dextrogyre que si tout le sucre était du mannose, et l'osazone obtenue des eaux-mères des hydrazones.

Carcinus mœnas LEACH. — Le suc de ce Crustacé, mis en contact avec le corrozo ne produit aucune trace de sucre réducteur. De même, légèrement acidifié par l'acide acétique, il est inactif envers cette substance.

On met en contact le suc et le corrozo dans les proportions suivantes :

eau.	20 ^{cc}
suc (alcalin).	15 ^{cc}
corrozo	2 gr.

Après 5 jours de contact à l'étuve à 37-39° il n'y a pas de sucre réducteur.

Même résultat avec l'expérience suivante faite avec du suc légèrement acidifié par l'acide acétique :

eau.	30 ^{cc}
suc (acide)	6 ^{cc}
corrozo	1 gr. 50

Après 5 jours de contact il n'y a pas de sucre réducteur.

Rappelons que ce suc de *Carcinus* s'est montré inactif aussi envers la manno-galactane de Fénugrec.

Maja squinado LATR. — Le suc de ce Crustacé, qui est inactif envers la manno-galactane de Fénugrec, hydrolyse la mannane du corrozo.

Ainsi, en laissant à la température du laboratoire pendant 4 jours le mélange suivant additionné de toluol :

eau	20 ^{cc}
corrozo	1 gr.
suc (neutre)	10 ^{cc}

on constate après 5 jours qu'il y a du sucre réducteur de formé. On obtient 0 gr. 53 de mannose.

Homarus vulgaris M. Edw. — De même que le suc de Maja, celui du Homard s'est montré *inactif* envers la manno-galactane de Fénugrec tandis qu'il est actif envers la mannane du corrozo, ainsi que le montre l'expérience suivante :

On fait le mélange :

eau	20 ^{cc}
corrozo	2 gr.
suc	20 ^{cc}

Après 7 jours de séjour à la température de 37-39° on défèque le liquide par le nitrate mercurique et on l'additionne de phénylhydrazine acétique. Il se forme un dépôt de mannosehydrazone, caractérisée par son poids de fusion et sa transformation en glucosazone. Elle pesait 0 gr. 730, ce qui équivalait à 0 gr. 481 de mannose.

IV. — MANNANE DE DATTIER

C'est la partie de l'albumen de *Phoenix dactylifera* L., insoluble dans l'eau et dans l'alcool, qui nous a servi dans nos expériences. Les graines, réduites en poudre, sont successivement épuisées par l'eau bouillante et l'alcool. La partie insoluble est constituée en majeure partie par des mannanes. Gatin (1) a trouvé qu'elle fournissait par hydrolyses successives avec des acides

(1) GATIN, *loc. cit.*

chauds, des sucres réducteurs ou le dextrose ne figure que dans une faible proportion, tout le reste étant du mannose ; il n'a jamais pu constater la présence de galactose parmi les produits d'hydrolyse et il explique les résultats contraires de Schultze en supposant que cet auteur aurait pris de l'oxalate de calcium, qu'il n'a pas eu la précaution d'éliminer, pour de l'acide mucique. Les mannanes du Dattier sont entièrement hydrolysables par les acides minéraux étendus, à chaud, tandis que les dextranses du même albumen sont plus résistantes à l'hydrolyse. Ainsi, en hydrolysant l'albumen du Dattier en plusieurs temps par de l'acide chlorhydrique à 5 p. 100, Gatin a montré qu'il reste un résidu qui, hydrolysé par le même acide à 15 p. 100, fournit uniquement du dextrose. La partie la plus réfractaire à l'hydrolyse, traitée par l'acide sulfurique pur n'a fourni également que du dextrose.

Helix pomatia L. — Le suc digestif d'*Helix* hydrolyse les hydrates de carbone de l'albumen du Dattier, avec une énergie considérable ; cette action est d'autant plus remarquable que la substance est complètement insoluble dans l'eau.

L'exemple suivant donnera une idée sur l'hydrolyse de l'albumen du Dattier par le suc d'*Helix*.

On fait deux mélanges ayant la composition suivante, dont l'un est porté à l'ébullition pour servir de témoin :

albumen du Dattier	2 gr.
suc d'Helix	4 ^{cc}
eau.	50 ^{cc}

On ajoute comme antiseptiques du toluol et du thymol. Après 6 jours de contact à l'étuve (temp. 37-39°) on traite les contenus des deux flacons par 3 volumes d'alcool à 95° afin de précipiter les albuminoïdes dont on se débarrasse par filtration. Les filtrats sont évaporés à siccité au bain-marie, en s'aidant du vide ; on reprend les résidus par de l'eau chaude et on les ramène au volume de 30^{cc}. Le liquide provenant du témoin bouilli ne contient pas de sucre réducteur en quantité décelable, tandis que le liquide provenant de l'action du suc d'Helix sur l'albumen, accuse une teneur en sucre réducteur (calculé en dextrose) de 1 gr. 45 pour 30^{cc} de liquide. On additionne à froid 24^{cc} de ce liquide sucré, d'une quantité de phénylhydrazine acétique correspondant à la teneur en sucre du liquide ; déjà au bout d'une demi-heure il s'est formé un dépôt d'hydrazone ; après 6 heures on recueille l'hydrazone formée, sur un double filtre préalablement taré, on la lave successivement avec 10^{cc} d'eau glaciale, 10^{cc} d'alcool à 95° et 10^{cc} d'éther sulfurique. Après dessiccation complète on trouve qu'elle pèse 1 gr. 582, ce qui correspond à 1 gr. 044 de mannose. Si on rapporte cette teneur en mannose à 30^{cc} de liquide, ce qui revient à dire à 2 gr. d'albumen insoluble, on trouve que les 2 gr. de cet albumen ont fourni 1 gr. 30 de mannose.

Le filtrat provenant du liquide au sein duquel s'est formé la mannosehydrazone, fut additionné de phénylhydrazine acétique et porté au bain-marie ; il se forma ainsi à chaud une petite quantité de glucosazone qu'on caractérisa après purification par son point de fusion. La mannose-hydrazone a été également caractérisée par son point de fusion instantanée au bloc Maquenne (218°-220°) et par sa transformation en glucosazone par addition de phénylhydrazine acétique et un séjour de 1 h. 1/2 au bain-marie bouillant.

En somme, on voit que le suc d'Helix a hydrolysé une quantité considérable de mannanes à côté d'une faible quantité de dextranes. Dans cette expérience l'albumen du Dattier a fourni 65 % de son poids de mannose.

Dans une autre expérience, dans laquelle 2 gr. de la partie insoluble d'albumen de Dattier, étaient mis en contact avec 100^{cc} d'eau et de 2^{cc} de suc d'Helix, pendant 3 jours à la température de 38°, on décèla à l'analyse la présence de 0 gr. 862 de sucre réducteur calculé en glucose ; parmi ce sucre réducteur il y avait 0 gr. 671 de mannose, le reste était du glucose ; il n'y avait pas de galactose.

On peut résumer les résultats des deux expériences comme il suit :

Durée de contact	Sucrs réducteur en glucose	Mannose
3 jours	0,862	0,671
6 jours	1,450	1,300

V. — L'AGAR-AGAR

L'agar-agar mis sous forme de gelée en contact des sucs de Mollusques et Crustacés, n'a jamais fourni la moindre quantité de sucre réducteur même après plusieurs semaines de contact. Les sucs des animaux suivants ont été essayés envers l'agar-agar : *Helix pomatia*, *Astacus fluviatilis*, *Astacus leptodactylis*, *Aplysia punctata*, *Carcinus moenas* et *Homarus vulgaris*.

VI. — ACTION COMPARATIVE DU SUC D'HELIx SUR LES DIFFÉRENTES MANNANES ET GALACTANES

On laisse à l'étuve à 37-39°, pendant 5 jours, les mélanges suivants, avec thymol et toluol comme antiseptiques, à côté de témoins avec suc bouilli et avec suc non bouilli plus eau, pour contrôler l'expérience.

L'analyse donne les chiffres réunis dans le tableau suivant :

	Sucre réducteur en glucose	Mannose	Galactose	POUR CENT de la substance hydrolysée
Suc d'Helix..... 5 ^{cc} Albumen du Dattier. 28 ^{gr} 50 Eau 80 ^{cc}	1 gr. 406	1 gr. 156	0 gr.	56 %
Suc d'Helix 5 ^{cc} Galactine (Luzerne). 28 ^{gr} 50 Eau 80 ^{cc}	0,868	0,400	0,436	34 %
Suc d'Helix..... 5 ^{cc} Manno-galactane du Fénugrec..... 28 ^{gr} 50 Eau..... 80 ^{cc}	0,744	0,339	0,385	29 %
Suc d'Helix..... 5 ^{cc} Corrozo 28 ^{gr} 50 Eau 80 ^{cc}	0,744	0,527	0	29 %
Suc d'Helix..... 5 ^{cc} Agar-Agar 28 ^{gr} 50 Eaux 80 ^{cc}	0	0	0	0 %

On voit dans ce tableau que c'est l'albumen du Dattier qui a fourni le plus de sucre réducteur et que ce sucre est presque exclusivement du mannose. Il est remarquable que cette substance, complètement insoluble dans l'eau, soit plus facilement hydrolysée que les manno-galactanes solubles. La manno-galactane de Luzerne, celle du Fénugrec et la mannane du corrozo sont hydrolysées à peu près dans les mêmes proportions. L'agar-agar, comme nous l'avons déjà dit, n'est pas attaqué par le suc d'Helix.

En résumé, on trouve chez les Mollusques et les Crus-

tacés des ferments hydrolysant diverses mannanes et galactanes. Toutes les substances se rattachant à l'un ou à l'autre de ces deux groupes, par ce fait qu'elles donnent du mannose ou du galactose à l'hydrolyse, ne se comportent pas de la même façon envers les ferments. Le suc d'*Helix* attaque toutes les mannanes et les galactanes que nous avons soumises à son action, à l'exception de l'agar-agar; tandis que le suc de quelques Crustacés marins possède une action diastasique sur la mannane de *Phytelephas* (corrozo), mais n'attaque pas la manno-galactane de *Fénugrec*. On trouve donc pour les ferments des mannanes et des galactanes une certaine spécificité dans leur action.

Nous avons constaté que les manno-galactanes de *Luzerne* et de *Fénugrec* peuvent, sous l'action du suc d'*Astacus*, donner naissance à du galactose sans que ce suc soit accompagné de mannose. Ce fait est important, parce qu'il est un indice favorable pour considérer les mannogalactanes comme des mélanges de mannanes et de galactanes et non comme des combinaisons de ces deux substances.

CHAPITRE IX

Dialyse des sucs digestifs

I. — ACTIVATION DES FERMENTS PAR LES ÉLECTROLYTES ET PAR D'AUTRES SUBSTANCES

Il y a un fait presque général qui se dégage à présent de l'étude des ferments, fait d'autant plus important qu'il est fourni par toutes les espèces d'actions diastasiques : hydrolyses, oxydations, coagulations, etc. Ce fait consiste dans l'inactivité des ferments en l'absence de certaines substances, de nature inorganique dans la majorité des cas, tels que : sels, acides, etc. On connaît aujourd'hui de nombreux exemples d'actions diastasiques pour lesquelles, ces substances, — ces co-ferments, d'après l'expression de G. Bertrand, — sont indispensables à l'action du ferment. Nous ne parlerons pas des cas où l'action

diastasique est seulement renforcée par certaines substances, car il nous faudrait examiner tous les ferments sans exception ; remarquons seulement que ces augmentations d'activité sont souvent très considérables et que, d'autre part, il est très probable que beaucoup de ces ferments, débarrassés des sels et des autres substances qui les accompagnent, soient totalement inactifs.

Nous examinerons ici les principaux cas où la présence d'un *co-ferment* est indispensable pour l'activité du ferment.

On connaît l'importance des sels de chaux dans le phénomène de la coagulation du sang, depuis les travaux de Arthus et Pagès, Hammarsten et Pekelharing. On retrouve un fait semblable pour la pectase ferment coagulant la pectine ; d'après Bertrand et Mallèvre, la pectase, débarrassée de ses sels de chaux, n'agit plus envers la pectine, mais il suffit d'ajouter une trace de ce sel pour la rendre active. D'autre part, G. Bertrand a montré l'importance du manganèse dans l'action d'un ferment oxydant : la *laccase* ; des échantillons de laccase peu actifs ne contiennent presque pas de manganèse, tandis que ce sont les échantillons les plus riches en cette substance qui sont aussi les plus actifs ; la laccase de Luzerne qui ne contient pas de manganèse est complètement inactive, mais elle devient active par addition d'un sel

de manganèse. D'après Saccharoff, l'action de la papaïne envers la gélatine est augmentée dans des proportions considérables par l'addition de Na Cl ou de la substance contenue dans une solution de papaïne bouillie et filtrée. Cet auteur n'a pas montré si la papaïne complètement débarrassée de ses sels était encore active, mais il considère quand même la présence de certaines substances inorganiques comme une condition indispensable pour l'action de ce ferment.

On connaît l'importance de la réaction du milieu pour l'action de certains ferments. La pepsine n'est active qu'en présence d'une certaine quantité d'acide (environ 1 gr. 50 de HCl p. 1000).

C'est pour les ferments du suc pancréatique qu'on a surtout de beaux exemples d'activation de ferments par d'autres substances. Pawlow et Chepowalnikow ont trouvé que les ferments du suc pancréatique, lipase, amylase et trypsine, avaient leurs actions renforcées par l'addition d'une certaine proportion de bile. Ils montraient ensuite que le suc pancréatique de fistule permanente, possédant un faible pouvoir protéolytique, devient très actif envers les albuminoïdes par addition de suc intestinal. Ils attribuèrent cette activation à une substance contenue dans l'intestin, qu'ils nommèrent *enterokinase*.

Delezenne et Frouin montrèrent que le suc pancréa-

tique recueilli par cathéterisme du canal de Wirsung était absolument inactif vis-à-vis de l'albumine d'œuf coagulée, la faible activité constatée par Pawlow étant due à ce que le suc, à la sortie du canal de Wirsung, s'était mélangé d'entérokinase.

Larguier des Bancels (1) montra le premier, qu'on pouvait rendre la trypsine du suc pancréatique active, par addition d'autres substances que l'entérokinase : des mélanges de sels et de colloïdes. Un peu plus tard, Delezenne montra qu'un seul sel suffisait et que les sels de chaux étaient particulièrement aptes à exercer cette activation (2).

Mais, en dehors de la trypsine, deux autres ferments pancréatiques, l'amylase et la maltase, sont également inactifs en l'absence de certains sels.

En collaboration avec V. Henri et H. Bierry (3) nous avons montré que le suc pancréatique de Chien, débarrassé par dialyse de ses électrolytes, perdait toute activité envers l'amidon et le maltose (4), activité qui lui

(1) LARGUIER DES BANCELS. *Activation du suc pancréatique pur sous l'influence combinée des colloïdes et des électrolytes*. Comp. rend. Soc. Biol. LXII, II, 1905, 130.

(2) DELEZENNE. *Comptes rendus Soc. Biol.* 1905.

(3) BIERRY, GIAJA et V. HENRI. *Inactivité amylolytique du suc pancréatique dialysé*. C. R. Soc. Biol. LX (1906) p. 479.

(4) BIERRY et GIAJA. *Inactivité du suc pancréatique dialysé vis-à-vis du maltose*. C. R. Soc. Biol. LX 1906.

était rendue par l'addition de certains sels. C'était là la première fois qu'on signalait un pareil cas pour des ferments hydrolysants d'hydrates de carbone.

Si le suc pancréatique de sécrétine, tel qu'il est sécrété par la glande, est actif envers l'amidon et inactif envers l'albumine, cela tient à ce que le suc contient les sels nécessaires à l'action de l'amylase (Na Cl particulièrement) et ne contient pas ceux nécessaires à la trypsine (Ca Cl²). Quant à la maltase du même suc, elle n'est pas, ou presque pas active, dans le suc pancréatique dont l'amylase est active. Cela tient à ce que la maltase en dehors des électrolytes dont elle a besoin au même titre que l'amylase, et qui lui sont fournis par le suc, ne manifeste son activité, comme l'ont montré Bierry et Terroine (1), qu'en milieu légèrement acide. Elle est inactive dans le suc pancréatique à cause de son alcalinité, due principalement au carbonate de soude.

Nous avons recherché avec Bierry (2) quels sont les sels capables d'activer un suc pancréatique rendu inactif envers l'amidon, par dialyse; nous avons ainsi trouvé

(1) BIERRY et TERROINE. *Le suc pancréatique de sécrétine contient-il de la maltase.* Compt. rend. Soc. Biol. LVII, I, 1905, 869.

(2) BIERRY et GIAJA. *Sur l'amylase et la maltase du suc pancréatique.* Compt.-rend. Acad. Sciences CLXIII 1906 p. 300.
— — *Sur le suc pancréatique dialysé.* Compt. rend. Soc. Biol. LXII 1907 p. 432.

que différents chlorures : NaCl , KCl , NH_4Cl , BaCl_2 , MnCl_2 etc. étaient capables de cette activation de même que les bromures, iodures et azotates, quoique ces derniers aient un pouvoir activant plus faible. Les sulfates, carbonates, oxalates, phosphates, de Ca , Na et K , n'activent pas le suc dialysé, mais n'entravent pas son activation par les autres sels. Nous avons montré avec V. Henri et H. Bierry (1) que l'amylase végétale se comporte différemment de l'amylase pancréatique. En effet, une solution d'amylase végétale dialysée longtemps, jusqu'à ce que sa conductivité électrique soit égale à 6×10^{-6} n'avait pas seulement conservé son activité, en l'absence d'électrolytes, mais était entravée dans son action par l'addition de Na Cl ou d'eau de mer.

Ces faits montrent que, dans l'étude des sucs digestifs, il est nécessaire de chercher s'il n'apparaît pas d'action diastasique nouvelle par addition de corps étrangers ou simplement par changement de la réaction du milieu ; la présence de la maltase dans le suc pancréatique est un exemple type, parce que avant 1906 on croyait que le suc pancréatique ne contenait pas de maltase et le seul changement de réaction du milieu a permis de la découvrir.

(1) BIERRY, GIAJA et V. HENRI. *Loc. cit.*

II. — PROPRIÉTÉS DIASTASIQUES DU SUC D'APLYSIE DIALYSÉ

Nous avons étudié à ce même point de vue les ferments du suc d'un Mollusque marin, l'Aplysie, et d'un Mollusque terrestre, *Helix pomatia* :

Il a été déjà dit que l'Aplysie fournissait une quantité considérable de suc digestif qu'on recueillait facilement en découvrant et en incisant une anse intestinale. Ce suc est peu épais, d'une couleur jaune claire lorsque l'animal est à jeun. Nous avons soumis ce suc à la dialyse dans des sacs en collodion, en présence de thymol, envers de l'eau distillée qu'on changeait une ou deux fois par jour. Au bout de dix jours, la conductivité électrique du suc dialysé indiquait l'absence presque complète d'électrolytes; nous avons fait avec les expériences suivantes :

I. — AMYLASE.

a) 50^{cc} amidon à 2 % + suc dialysé 10^{cc}

b) 50^{cc} amidon à 2 % + suc dialysé 10^{cc} + 0 gr. 1 Na Cl.

Après 3 heures et demie de contact à l'étuve à 37°, on fait une première prise de quelques centimètres cubes de ces deux mélanges. On constate que le mélange a) ne réduit pas la liqueur de Fehling tandis que dans le

mélange *b*) l'empois d'amidon est liquéfié et le liquide réduit la liqueur de Fehling.

Après deux jours de contact à l'étuve, le mélange *a*) ne réduit toujours pas. On ajoute à ce moment à ce mélange 0 gr. 1 de Na Cl et on le replace à l'étuve. Après 12 heures on fait une prise et on constate que le liquide contient une quantité considérable de sucre réducteur.

Pour voir jusqu'à quel stade était allée l'action de ce suc dialysé, sur l'amidon, ces deux mélanges *a*) et *b*) ont été traités au nitrate mercurique, les liquides déféqués additionnés de phénylhydrazine acétique ont été portés au bain-marie bouillant; il ne s'est pas formé un seul cristal de glucosazone. Mais à froid il s'est fait un dépôt abondant dans *a*) et *b*) d'osazone entièrement soluble à chaud. Purifiée par l'eau froide et l'éther et puis desséchée, elle fondait à 197°-199°; c'était donc bien de la maltosazone.

Il ressort de cette expérience que le suc d'Aplysie, dialysé, est inactif envers l'amidon; additionné de Na Cl il agit sur l'amidon mais ne va que jusqu'au stade maltose, au moins dans l'espace de trois jours de temps.

Nous remarquerons ici que le suc d'Aplysie non dialysé, qui est de réaction légèrement acide, saccharifie éner-

giquement l'amidon. Cette saccharification va jusqu'au stade glucose.

Mais au début de la saccharification, par exemple au bout d'une heure de contact, on ne trouve que du maltose ; ce stade maltose n'est que transitoire, car au bout de plusieurs heures on ne décèle plus que du glucose.

Si on alcalisine le suc d'Aplysie pour lui donner à peu près la même alcalinité que celle du suc pancréatique du Chien, il agit encore sur l'amidon et, de même que le suc acide, il va jusqu'au stade glucose, avec cette différence toutefois que, dans le cas du suc alcalin, le stade maltose est plus prolongé, mais quand même transitoire, car après deux ou trois jours on ne décèle plus que du glucose.

Le fait est intéressant, car il est à rapprocher de ce qu'ont observé H. Bierry et E. Terroine pour le suc pancréatique du Chien, dont la maltase est très peu active en milieu alcalin.

II. — *MALTASE*. — On fait avec le même suc dialysé que celui de l'expérience précédente, les deux mélanges suivants :

a) 50^{cc} solution maltose à 2 % + 5^{cc} suc dialysé.

b) 50^{cc} solution maltose à 2 % + 5^{cc} suc dialysé + 0 gr. 1 Na Cl.

Après deux jours de contact on défèque les liquides par le nitrate mercurique, on les additionne de phénylhydrazine ; portés au bain-marie bouillant, il se forme au bout d'une demi-heure dans *b* une osazone observée au microscope, elle a la forme caractéristique de la glucosazone, elle est insoluble à chaud ; recueillie sur un filtre, elle est purifiée par l'eau bouillante et l'acétone étendue de son volume d'eau. Après dessiccation complète elle donne le point de fusion de la glucosazone. Le maltose a donc été dédoublé en glucose par le suc d'Aplysie dialysé additionné de Na Cl. Par contre, le même suc non additionné de Na Cl n'a pas dédoublé ce biose, car il ne s'est pas formé de glucosazone ; à froid les maltosazones se formaient et se redissolvaient à chaud.

On peut donc conclure que l'amylase et la maltase du suc digestif de l'Aplysie, de même que ces deux ferments du suc pancréatique du Chien, sont inactifs en l'absence d'électrolytes.

III. *ÉMULSINE*. — L'émulsine de l'Aplysie est active en l'absence d'électrolytes, ainsi que le montre l'expérience suivante, faite avec le même suc dont l'amylase et la maltase, comme nous venons de le voir, étaient inactives en l'absence de Na Cl.

- a) 50^{cc} solution d'amygdaline à 1 % + 10^{cc} suc dialysé;
b) 50^{cc} solution d'amygdaline à 1 % + 10^{cc} suc dialysé + 0,07.1 Na Cl.

Après trois heures de contact on constate un dédoublement manifeste du glucoside aussi bien dans *a* que dans *b*.

III. — PROPRIÉTÉS DIASTASIQUES DU SUC DIALYSÉ D'HELIX

Ce suc est ordinairement épais, aussi avant de le dialyser, on le diluait 3-4 fois par addition d'eau distillée. La dialyse a été effectuée dans des sacs en collodion en présence d'antiseptique (thymol, toluol). La matière colorante du suc dialyse vite; au début, elle imbibe les parois du dialyseur, ainsi le suc devient plus clair mais ne se débarrasse jamais complètement de sa matière colorante, Au début de la dialyse, les ferments passent également à travers les parois du sac de collodion, et particulièrement l'amylase et la maltase. Ainsi, si l'on prolonge assez longtemps la dialyse, ce qui est nécessaire si l'on veut se débarrasser complètement des électrolytes, on obtient des sucs dans lesquels l'amylase et la maltase ont complètement disparu. Nous ne sommes pas parvenu, à cause de leur diffusion, à résoudre si ces

deux ferments sont inactifs sans électrolytes de même que ceux de l'Aplysie.

Voici un exemple de dialyse du suc d'Helix et de ses propriétés diastasiques après débarrassement des électrolytes. Du suc dilué trois fois par de l'eau distillée est dialysé pendant un mois envers de l'eau distillée, jusqu'à ce que sa conductivité électrique soit égale à 24.10^{-6} . A ce moment on essaye son action envers certains corps :

I. *AMYLASE*. — Il est sans action sur l'amidon additionné de Na Cl ou sans Na Cl, comme le montre l'expérience suivante :

- a) 45^{cc} amidon à 2 % + 5^{cc} suc dialysé ;
- b) 45^{cc} amidon à 2 % + 5^{cc} suc dialysé + Na Cl 0 gr. 1.

Après 48 heures de contact à 37°, ni *a* ni *b*, ne contiennent de sucre réducteur. On ajoute à chacun des deux flacons 5^{cc} du même suc dialysé ; après 48 heures pas de saccharification. D'après cela on est en droit de conclure que l'amylase a disparu, d'autant plus que, comme nous l'avons déjà dit, on la trouve en abondance pendant la dialyse dans le liquide externe du dialyseur.

II. *LACTASE*. — Le suc qui ne contenait plus d'amylase, contenait cependant de la lactase, et celle-ci

agissait aussi bien sans électrolytes qu'additionnée de Na Cl :

- a) 100^{cc} lactose à 3 % + 5^{cc} suc dialysé ;
- b) 100^{cc} lactose à 3 % + 5^{cc} suc dialysé + 0 gr. 1 Na Cl.

Après quatre jours d'étuve on recherche si le lactose a été hydrolysé, par la méthode des osazones et la méthode polarimétrique. On trouve que ce sucre a été interverti dans *a* aussi bien que dans *b*.

III. *ÉMULSINE*. — Son activité a été éprouvée par l'amygdaline. Elle est active en l'absence d'électrolytes, de même que celle de l'Aplysie.

IV. *INVERTINE*. — Ce ferment, à en juger par son activité, se retrouve en quantité considérable dans le suc dialysé d'où l'amylase a disparu :

- a) 30^{cc} solution saccharose à 2 % + 5^{cc} suc dialysé
- b) 30^{cc} solution saccharose à 2 % + 5^{cc} suc dialysé + 0 gr. 1 Na Cl.

Après 24 heures, l'intervention du saccharose est complète dans les deux mélanges.

V. *RAFFINOLEVULASE*. — Le raffinose est attaqué par le suc dialysé :

- a) 25^{cc} solution raffinose à 2 % + 5^{cc} suc dialysé
- b) 25^{cc} solution raffinose à 2 % + 5^{cc} suc dialysé + 0 gr. 1 Na Cl.

Après 24 heures on trouve dans *a* 0 gr. 150 sucre réducteur et dans *b* 0 gr. 130 (calculé en glucose).

VI. *PHLORIDZINASE*. — Le suc dialysé agit sur la phloridzine sans qu'il soit nécessaire d'ajouter des sels.

RÉSUMÉ. — De même que l'amylase et la maltase pancréatiques, ces deux ferments du suc digestif de l'Aplysie sont inactifs en l'absence d'électrolytes. Il suffit de les additionner d'une petite quantité de Na Cl pour les rendre actifs. L'émulsine de l'Aplysie est active en l'absence d'électrolytes. Les ferments suivants d'*Helix* : émulsine, lactase, invertine, phloridzine, et raffinolévulase, sont actifs en l'absence d'électrolytes.

Quant à l'amylase et à la maltase du suc d'*Helix*, la question n'a pas pu être tranchée par la méthode de dialyse que nous employons, car, dans ces conditions, ces deux ferments traversaient les parois du dialyseur et disparaissaient complètement du suc.

CONCLUSIONS

1° L'émulsine est un ferment très répandu chez les Mollusques et chez les Crustacés ; nous l'avons trouvée chez tous les animaux appartenant à ces deux classes, chez lesquels nous l'avons recherchée.

2° L'hydrolyse diastasique de la phloridzine et de la populine est attribuable à un ferment distinct de l'émulsine.

3° Au cours de l'hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine d'*Helix* ou par l'émulsine d'amandes, il se forme des produits intermédiaires entre ce glucoside et les produits ultimes de son hydrolyse. Ces produits intermédiaires sont différents suivant que l'hydrolyse se fait par l'une ou l'autre de ces deux émulsines. Dans le cas de l'émulsine d'amandes, il se forme de l'amygdonitrieglucoside, tandis que dans le cas de l'émulsine d'*Helix* il est possible que le produit intermédiaire soit un biose, contenant les deux molécules de glucose de l'amygdaline.

4° Nous avons trouvé chez les Mollusques et chez les Crustacés une lactase, ferment hydrolysant le lactose.

5° L'acide lactobionique, dérivé du lactose, est hydrolysé par le suc digestif de certains Mollusques. C'est la première fois qu'un ferment hydrolysant ce composé est trouvé.

6° La phényllactosazone, autre dérivé du lactose, est également hydrolysée par un ferment contenu dans le suc digestif d'*Helix* ; cette hydrolyse se fait en galactose et glucosazone. Un pareil dédoublement de ce corps n'avait jamais été obtenu, ni par les ferments, ni par les agents chimiques.

7° Nous avons obtenu une hydrolyse diastasique du maltose, de l'acide maltobionique et de la phénylmaltosazone. De même que pour les dérivés du lactose, c'est la première fois que des ferments attaquant ces deux derniers corps sont signalés.

8° Le saccharose et le raffinose sont hydrolysés par le suc digestif de quelques Mollusques et Crustacés. Ces deux actions diastasiques sont indépendantes l'une de l'autre. Le raffinose subit l'hydrolyse complète sous l'influence de deux ferments : l'un, que nous désignons par *raffinolévulase* ; l'autre est la *mélibiase*. L'hydrolyse diastasique du raffinose n'avait pas été signalée jusqu'à présent chez les animaux.

9° On trouve chez les Mollusques et les Crustacés des ferments hydrolysant des mannanes et des galactanes. Ces ferments ont une certaine spécificité d'action : toutes les mannanes et les galactanes ne sont pas hydrolysables par un seul et même ferment.

10° L'amylase et la maltase du suc digestif d'Aplysie, totalement débarrassé des électrolytes par dialyse, sont complètement inactives. Ces deux ferments récupèrent leur activité par addition de certains sels. Par contre, l'émulsine du même suc est active en l'absence d'électrolytes, de même que l'émulsine, la phloridzinase, l'invertine, la lactase et la raffinolévulase du suc d'Hélix.

11° Enfin, on peut conclure de tout ce qui précède que certains Invertébrés possèdent un nombre considérable de ferments qu'on n'a jamais signalés chez les animaux supérieurs.

Nous réunissons dans le tableau ci-joint les actions diastasiques que nous avons constatées au cours de ce travail, en y joignant les résultats obtenus par M. G. Sellière pour la xylane et la cellulose, et ceux obtenus par MM. Barthet, Bierry et Ranc pour les stachyose, le gentianose, le rhamninoze et le lactose-urée.

Le signe + signifie une action diastasique positive, le signe —, une action diastasique nulle.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

Botanique. — Les tactismes chez les végétaux.

Minéralogie. — Cristallisations des solutions sursaturées.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 18 mai 1909.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Paul APPELL

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

L. LIARD

MOLLUSQUES

	AMYGDALINE	SALICINE	ARBUTINE	CONIFERINE	ESCULINE	GENTIOPICRINE	HELICINE	CONVOLVULINE	QUERCITRINE	SOLANINE
HELIX POMATIA L.	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
HELIX ASPERSA MÜLL.	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
HELIX MEMORIALIS L.	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
HELIX HORTENSIS O.F. MÜLL.	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ARION RUFUS L.	+	+								
TESTACELLA HALIOTIDEA FER.	+									
PLANORBIS CORNEUS L.	+									
LYMNEA STAGNALIS O.F. MÜLL.	+									
APLYSIA PUNCTATA CUV.	+	+								
PATELLA VULGATA L.	+	+								
TROCHUS TURBINATUS BORN.	+									
HALIOTIS TUBERCULATA L.	+	+								
BUCCINUM UNDATUM L.	+									
DORIS TUBERCULATA CUV.	+									
TAPES DECUSSATUS L.	+									
PECTEN MAXIMUS L.	+									
MYA ARENARIA L.	+									
VENUS VERRUCOSA L.	+	+								
MYTILUS EDULIS L.	+									

CRUSTACE S

	AMYGDALINE	SALICINE	ARBUTINE	CONIFERINE	ESCULINE	GENTIOPICRINE	HELICINE	CONVOLVULINE	QUERCITRINE	SOLANINE
ASTAGUS FLUVIATILIS ROND.	+	+	+	+		+	+	-	-	-
ASTACUS LEPTODACTYLIS ESCH.	+	+	+	+		+	+	-	-	-
PALINURUS VULGARIS LATR.	+	?								
HOMARUS VULGARIS M. EDW.	+	+	+	+		+			-	
CARCINUS NOENAS LEACH.	+	+	+							
MAJA SQUINADO LATR.	+	+	+			+				
PLATYCARCINUS PAGURUS L.	+	+	+							
PORTUNUS PUBER L.	+	+								

[illegible]

TABLE DES MATIÈRES

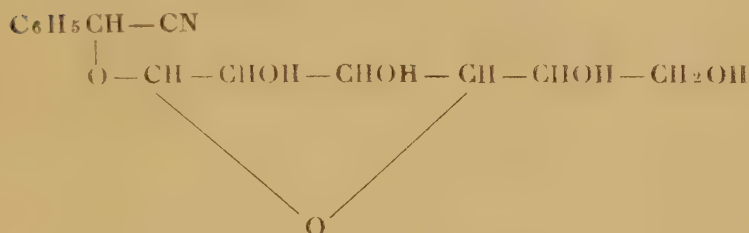
	<i>Pages</i>
PRÉFACE.....	9
INTRODUCTION.....	15
CHAPITRE PREMIER. — Procédés employés pour recueillir les sucs digestifs.....	27
CHAPITRE II. — Dédoublement diastasique des glucosides	
I. — Les glucosides	37
II. — Les ferments des glucosides.....	42
<i>RECHERCHES PERSONNELLES</i>	
I. — Méthode employée dans l'étude du dédoublement diastasique des glucosides	56
II. — Recherche de l'émulsine chez les Mollusques.....	64
III. — Recherche de l'émulsine chez les Crustacés.....	74
IV. — Action du suc d' <i>Helix pomatia</i> sur les glucosides synthétiques : α -et- β -méthyl- <i>d</i> -glucoside.....	88
CHAPITRE III. — Sur les ferments dédoublant la phloridzine et la populine.....	91
CHAPITRE IV. — Etude de l'hydrolyse de l'amygda- line par l'émulsine d'<i>Helix</i> et par l'émul- sine d'amandes.....	101

	Pages
CHAPITRE V. — Dédoublément diastasique du lactose et de ses dérivés	
I. — Le lactose.....	119
II. — Les lactases.....	124
RECHERCHES PERSONNELLES	
I. — Méthodes employées pour caractériser l'hydrolyse diastasique du lactose.....	131
II. — Recherche de la lactase chez les Mollusques.....	137
III. — Recherche de la lactase chez les Crustacés.....	144
IV. — Dédoublément diastasique de l'acide lactobionique	150
V. — Dédoublément diastasique de la phénylmaltosazone	155
CHAPITRE VI. — Dédoublément diastasique du maltose, de l'acide maltobionique et de la phénylmaltosazone	
I. — Le maltose.....	163
II. — L'acide maltobionique.....	166
III. — La phénylmaltosazone.....	168
CHAPITRE VII. — Hydrolyses diastasiqnes du saccharose et du raffinose	
I. — Le raffinose, le mélibiose et le saccharose.....	173
II. — Les ferments hydrolysant le raffinose et le saccharose.....	178
III. — Recherche des ferments du raffinose et du saccharose, chez les Mollusques et chez les Crustacés...	182
CHAPITRE VIII. — Les ferments des mannanes et des galactanes	
I. — Les mannanes et les galactanes.....	201
II. — Les ferments hydrolysant les mannanes et les galactanes.....	209

	Pages
<i>RECHERCHES PERSONNELLES</i>	
Etude de l'action des sucs digestifs des Mollusques et des Crustacés sur quelques mannanes et galactanes	216
I. — La galactine (manno-galactane de Luzerne).....	217
II. — Manno-galactane de Fenugrec.....	223
III. — Mannane de Phytelephas (corrozo).....	227
IV. — Mannane de Dattier.....	232
V. — L'agar-agar.....	236
VI. — Action comparative du suc d' <i>Helix</i> sur les diffé- rentes mannanes et galactanes.....	236
CHAPITRE IX. — Dialyse des sucs digestifs	
I. — Activation des ferments par les électrolytes et par d'autres substances.....	239
II. — Propriétés diastasiques du suc d' <i>Aplysie</i> dialysé.	245
III. — Propriétés diastasiques du suc dialysé d' <i>Helix</i> ...	249
CONCLUSIONS.....	253
TABLEAU.	

ERRATA

Page 102, corriger la formule de l'amygdonitrileglucoside comme suit



Substituer un d romain au d grec chaque fois que cette lettre précède le
le mot glucoside.



